

F12

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/68698 A2

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07K 14/705

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/02837

(22) Internationales Anmeldedatum:  
14. März 2001 (14.03.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 13 296.0 17. März 2000 (17.03.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA KG  
[DE/DE]; 55216 Ingelheim/ Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHULTZ, Guenter  
[DE/DE]; Dardanellenweg 30, 12109 Berlin (DE).  
PLANT, Timothy [GB/DE]; Potsdamer Str. 16, 12205

Berlin (DE). STROTMANN, Rainer [DE/DE]; Goethes-  
trasse 20, 12207 Berlin (DE). HARTENECK, Christian  
[DE/DE]; Weddigenweg 61, 12205 Berlin (DE). NUN-  
NENMACHER, Karin [DE/DE]; Strasse am Schoeler-  
park 26, 10715 Berlin (DE).

(74) Anwalt: LAUDIEN, Dieter; Boehringer Ingelheim  
GmbH, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, MX, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

Veröffentlicht:  
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NOVEL NON-SELECTIVE CATION CHANNEL

(54) Bezeichnung: NEUER NICHTSELEKTIVER KATIONENKANAL

(57) Abstract: The present invention relates to nucleic acids which code for the non-selective cation channel OTRPC4 and to polypeptides which are coded by said nucleic acids. The invention also relates to hosts or host cells that express said polypeptide and to methods for finding blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels. The invention further relates to blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels and to pharmaceutical compositions containing said blocking agents, activators and modulators. The invention further relates to non-human mammals that contain OTRPC4 as a transgene, inactivated gene (knock-out) or modified gene (knock-in).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren, sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirte bzw. Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivator sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfasst Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Ausserdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

WO 01/68698 A2

BEST AVAILABLE COPY

## Neuer nichtselektiver Kationenkanal

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirte bzw. Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfaßt Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Außerdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

## Hintergrund der Erfindung

Zellen sind je nach physiologischem Zustand des Gewebes, dem sie angehören unterschiedlichen extrazellulären Ionenkonzentrationen und damit unterschiedlichen Osmolaritäten ausgesetzt. Ein Absinken der extrazellulären Osmolarität führt zu einer intrazellulären Volumenzunahme durch Einstrom extrazellulärer Flüssigkeit. Diese Volumenzunahme bedroht die Homöostase der Zelle, so daß die Evolution ein Mechanismus entwickelte, dessen Aktivierung dazu führt, daß eine Zelle, die osmotisch bedingte Volumenzunahme aktiv gegenregulieren kann. Dieser Mechanismus wird als „regulated volume decrease“ (RVD) bezeichnet (zur Übersicht siehe Ref. 1). Der molekulare Mechanismus, der dem RVD zugrunde liegt, ist bisher nicht bekannt, allerdings wurde in verschiedenen Studien ein transienter Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentrationen nachgewiesen, der mit der Volumenregulation einherging und durch Lanthan und Gadolinum hemmbar war. Möglicherweise ist also ein nicht-selektiver Kalzium-durchgängiger Kanal an dem RVD beteiligt.

In *C. elegans* wurde eine cDNA kloniert, die für einen Kanal kodiert, der Verwandtschaften zu der TRP („transient receptor potential“)-Familie von nicht-selektiven Kationenkanälen aufweist. Dieser Kanal ist für die Reaktionen von *C. elegans* auf Lösungen mit hoher Osmolarität verantwortlich und wurde deshalb OSM-9 genannt (2). Bisher ist aber noch nichts zu den biophysikalischen Charakteristika von OSM-9 bekannt, eine entsprechendes homologes Protein wurde bisher auch nicht für Säugetiere beschrieben.

Die Familie von TRP-Kanälen (TRPCs) (3) kann in drei unterschiedliche Subfamilien unterteilt werden (4). Die größte Familie bildet die STRP-Subfamilie (short TRP; benannt nach ihrem kurz N-Terminus), bestehend aus den klassischen Drosophila-Kanäle TRP und TRPL (transient receptor potential-like) (5) sowie 7 Säugerhomologen von TRP (TRPC1-7) (6-15). Die Kanäle dieser Familie sind beteiligt an dem Kalzium-Einstrom, der durch die Aktivierung von Rezeptoren ausgelöst wird, denen gemeinsam ist, daß sie die Phospholipase C aktivieren. Die zweite Unterfamilie der TRPCs wurde OTRPC benannt, nach dem ersten Vertreter dieser Familie OSM-9. Die Kanäle dieser Familie werden aktiviert durch chemische und physikalische Reize. Zur OTRPC-Familie gehören der Vanilloid-Rezeptor (VR1) (16, 17), der vanilloid-like receptor (VRL-1, auch als GRC bekannt) (18, 19), und ein Kanal, dessen mögliche Funktion, die eines epithelialen Kalzium-Kanals ist (ECaC oder auch als CaT1 bekannt) (20, 21). VR1 ist ein nicht-selektiver Kalzium-permeabler Kanal, der aus dorsalen Ganglien-Zellen der Ratten kloniert wurde (16). Dieser Kanal wird aktiviert durch Hitze und durch die Substanz Capsaicin, die Schmerz-auslösend wirkt. Der kürzlich klonierte, dem VR1 verwandte Kanal, VRL-1, kann durch Hitze aktiviert werden und könnte in der Schmerzrezeption beteiligt sein (18). Allerdings könnte sein weit verbreitete Expression auch ein Hinweis dafür sein, daß dieser Kanal noch andere Funktionen hat, z.B. wurde kürzlich gezeigt, daß dieser Kanal an dem intrazellulären Transport des „insulin-like growth factor-1“ (IGF-1) beteiligt ist (19). Andere Mitglieder dieser OTRPC-Familie sind ECaC, der aus Kaninchen-Niere kloniert wurde (20) und CaT1 (21), der aus Ratten-Duodenum kloniert wurde; beide Kanäle sind in der Sequenz identisch und sind an der Vitamin D ausgelösten Einstrom von Kalzium in epithelialen Zellen beteiligt (20, 21). Die dritte TRP-Subfamilie wurde LTRPC genannt (long TRP channels, nach ihrem langen N-terminus benannt) und besteht bislang aus den beiden Mitgliedern Melastatin (22) und TRPC7 (23).

Die WO 00/32766 offenbart humane Vanilloid-Rezeptoren und deren Verwendung.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, einen neuen TRP-Kanal mit vorteilhaften Eigenschaften gegenüber den oben beschriebenen, aus dem Stand der Technik bekannten Kanälen bereit zu stellen.

### Beschreibung der Erfindung

Die Aufgabe wurde im Rahmen der Ansprüche und Beschreibung der vorliegenden Erfindung gelöst.

Die Verwendung der Einzahl oder des Plurals in den Ansprüchen oder der Beschreibung soll in keiner Weise limitierend sein und die andere Form ebenfalls mit einschließen. RNA und RNS bzw. DNA und DNS haben jeweils die gleiche Bedeutung.

Die Erfindung betrifft eine Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 oder für ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine Untereinheit kodiert, oder Varianten der besagten Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes oder eine Nukleinsäure, die an besagte Nukleinsäure hybridisieren kann. Der erfindungsgemäße Kationenkanal bzw. OTRPC4 Polypeptide sind weiter unten beschrieben. Erfindungsgemäße OTRPC4 Nukleinsäuren sind bevorzugt eukaryontische Nukleinsäuren, besonders bevorzugt humane oder murine, aber auch aus der Ratte, Hamster, Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe, Hund, Katze, Affen sowie weiteren dem Fachmann bekannte Eukaryonten. Beispielsweise ist besagte Nukleinsäure eine rekombinant hergestellte Nukleinsäure, z.B. eine cDNS. In den Abbildungen bzw. in dem Beispiel sind exemplarisch erfindungsgemäße Nukleinsäuren gezeigt.

Bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure RNS.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure DNS.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie 5' oder 3' oder 5' und 3' untranslatierte Regionen enthält. Die erfindungsgemäße Nukleinsäure kann stromaufwärts und oder stromabwärts weitere untranslatierte Bereiche enthalten. Besagte untranslatierte Region kann ein regulatorisches Element, wie z.B. einen Transkriptionsinitiationseinheit (Promoter) oder Enhancer umfassen. Besagter Promoter kann beispielsweise ein konstitutiv aktiver oder induzierbarer oder Entwicklungsgesteuerter Promoter sein. Bevorzugt, ohne weitere bekannte Promoter auszuschließen, sind die konstitutiven Promoter des humanen Cytomegalovirus (CMV) und Rous Sarkomvirus (RSV), ebenso wie der Simianvirus 40 (SV40) und Herpes simplex Virus (HSV) Promoter.

Erfindungsgemäße induzierbare Promoter umfassen Antibiotikum resistente Promoter, Hitzeschockpromoter, Hormon-induzierbare „Mouse Mammary Tumor Virus“ (MMTV)-Promoter und den Metallothionein-Promoter.



Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

5 Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie für Varianten der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes kodiert.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß sie an eine  
10 erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann. Stringente Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und finden sich insbesondere in Sambrook et al. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß  
15 besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 ein Säugerkationenkanal ist.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 murin ist.

Weiterhin bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Nukleinsäure dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 human ist.

20 Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

CTCTACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA  
GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG  
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG  
25 GGAGGATGGCTCCCTTTTCGCCCTACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC  
AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG  
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG  
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC  
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG  
30 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC  
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC  
GGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT

CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG  
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG  
GCAACATGCGGGAGTTCATTA ACTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC  
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC  
5 TCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA GCGCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC  
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCCCTGTCGCTGGCTG  
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA  
AGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG  
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC  
10 GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC  
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA  
GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC  
GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC  
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA  
15 TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG  
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC  
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT  
ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCAACGGTGGAC  
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCTCTGTTCTTC  
20 TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC  
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCTGGTGATCG  
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT  
TTGCCCTGGTCTCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC  
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC  
25 GATTCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC  
CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT  
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC  
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA  
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA  
30 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC  
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGGCCACCACCATC  
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG

GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG  
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA  
TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA  
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG  
5 GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT  
GGGGAACCCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA  
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT  
CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC  
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG  
10 ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA  
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA  
GGCCCCAGCCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG  
TGACCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG  
CACTGCCCCGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA  
15 TTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA  
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA  
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
20 besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die humane OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen umfaßt.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren sind nach der international anerkannten IUPAC Nomenklatur angegeben, d.h. unter R wird ein A oder G, unter M ein A oder C, unter S ein  
25 C oder G, unter Y ein C oder T, unter K ein G oder T und unter W ein A oder T verstanden.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA  
30 GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG  
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG  
GGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC

AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG  
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG  
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC  
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG  
5 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC  
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC  
GGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT  
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG  
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG  
10 GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC  
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC  
TCGTGGCCCAAGGGAGCTGATGTCCACGCCCAAGGCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC  
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTGTCGCTGGCTG  
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA  
15 AGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG  
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC  
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC  
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA  
GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC  
20 GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCTCTCGC  
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA  
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG  
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC  
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT  
25 ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCACGGTGGAC  
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC  
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC  
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCCTGGTGATCG  
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT  
30 TTGCCCTGGTCCCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC  
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC  
GATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC

CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT  
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC  
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA  
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA  
5 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC  
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCACCATC  
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG  
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG  
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA  
10 TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA  
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG  
GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT  
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA  
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT  
15 CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC  
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG  
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA  
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA  
GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG  
20 TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG  
CACTGCCCCGGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA  
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA  
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA  
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

25 hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die humane OTRPC4 DNS  
Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die  
Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT  
30 CCCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC  
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC

AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC  
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG  
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA  
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCTCAGCCGC  
5 CCCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG  
GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC  
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC  
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG  
GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT  
10 GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC  
AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA<sub>6</sub>GCCCAGGCC  
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA  
GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT  
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC  
15 AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC  
CAAGFTTGTTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTT  
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCAT  
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG  
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC  
20 TATGGGCCAGTGTATTCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG  
GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG  
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC  
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA  
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT  
25 ACCCTTACCGCACCACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC  
TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTCCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA  
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT  
CATCTACTCTGTCCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA  
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT  
30 TTA<sub>1</sub>CTTCAACCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA  
GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC  
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG

TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC  
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG  
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG  
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCC  
5 TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG  
CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTG  
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG  
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG  
GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC  
10 AGTATTATGGCTTCTCGCATAACCGTGGGCCGCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT  
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAAGTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG  
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG  
TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten  
15 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Codes  
umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die humane OTRPC4  
cDNS Sequenz umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die  
20 Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT  
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC  
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC  
25 AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC  
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG  
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA  
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCTCAGCCGC  
CCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG  
30 GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAAC  
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC  
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG

GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT  
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC  
AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA<sub>6</sub>GCCCAGGCC  
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA  
5 GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT  
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC  
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC  
CAAGTTTGTTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCTCTT  
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCAT  
10 GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG  
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC  
TATGGGCCAGTGTATTCCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG  
GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG  
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC  
15 GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA  
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT  
ACCCTTACCGCACCAACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC  
TCTTCACTGGGGTCTCTGTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA  
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT  
20 CATCTACTCTGTCCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA  
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT  
TACTTCAACCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA  
GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC  
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG  
25 TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC  
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG  
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG  
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCC  
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG  
30 CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTG  
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTACCCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG  
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG



GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC  
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT  
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG  
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG  
5 TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die humane OTRPC4 cDNS Sequenz.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

10 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG  
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT  
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC  
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT  
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA  
15 GGCTCCTCTTCTCTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT  
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCAGGGCGCTTTCGCAAGGGGGTTCCC  
AACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG  
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC  
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA  
20 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC  
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC  
TCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC  
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG  
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT  
25 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC  
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG  
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG  
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC  
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC  
30 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG  
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC  
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT

CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC  
GGGGTCTTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA  
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA  
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT  
5 GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA  
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA  
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTACCCTCACC GCCTACTA  
TCAGCCACTGGAGGGCAGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT  
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC  
10 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT  
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT  
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC  
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC  
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT  
15 CCTGCTTGTTGACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC  
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC  
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT  
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG  
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT  
20 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT  
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG  
ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA  
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC  
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA  
25 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT  
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC  
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG  
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA  
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG  
30 GCCTTCGCTCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT  
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC  
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGGCG

GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA  
AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC  
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA  
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC  
5 TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC  
TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AA  
AA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten  
10 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes  
umfaßt, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G  
oder T und W ein A oder T sein kann. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten  
Sequenz die murine OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen  
15 umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die  
Sequenz

GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG  
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT  
20 GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC  
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT  
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA  
GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT  
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTCCGCAAGGGGGTTCCC  
25 AACCCCATTTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG  
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCTTGTTGACTACGGCACTTACCGTCACCAC  
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA  
GCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCCCCCATCTCAAAGTCTTCAATCGGC  
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC  
30 TCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC  
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG  
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT

GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC  
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG  
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG  
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC  
5 ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC  
TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG  
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC  
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT  
CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC  
10 GGGGTCTTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA  
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA  
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT  
GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA  
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA  
15 TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCTCACCGCCTACTA  
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT  
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC  
CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT  
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT  
20 GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC  
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC  
GGGGACCTACAGCATCATGATTAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT  
CCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC  
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC  
25 GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT  
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG  
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT  
CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT  
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG  
30 ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA  
TGGTGAAGTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGTCTC  
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA'TTAA

CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT  
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC  
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG  
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA  
5 CGATGCCCCACTGTAGGGGGCCGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG  
GCCTTCGCTCCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT  
GGGACCTTGAGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC  
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG  
GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA  
10 AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC  
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA  
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC  
TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC  
TGGTGCTCAATAAATGFTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
15 AA  
AA

hat, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G oder T und W ein A oder T sein kann. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die murine OTRPC4 DNS Sequenz mit 5' und 3'-untranslatierten Sequenzen.

20 Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC  
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTTTCCCCGGTGGATGC  
25 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA  
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATGACCTGTTGGAGTCCACCCG  
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTT  
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA  
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC  
30 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT  
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC  
TGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG

GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA  
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA  
CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGGCGCTGCAA  
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCC  
5 GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC  
TGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA  
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC  
ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA  
GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC  
10 GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG  
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT  
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG  
GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG  
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT  
15 GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA  
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT  
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCC  
TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT  
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG  
20 CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC  
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC  
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC  
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT  
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC  
25 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT  
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG  
CGAGACCTTCAGCGCCTTCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG  
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT  
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC  
30 ATGGGTGAGACCGTGGGCGCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT  
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAG  
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA

CTCCGGACCGCAGGTGGTGGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG  
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA  
GTACTATGGCTTCTCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC  
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG  
5 TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC  
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes  
10 umfaßt. Erfindungsgemäß ist mit der oben dargestellten Sequenz die murine OTRPC4 cDNS Sequenz umfaßt.

Weiterhin bevorzugt ist eine Nukleinsäure, die dadurch gekennzeichnet ist, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC  
15 CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTCCCCGGTGGATGC  
TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA  
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCG  
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCCTTGTT  
20 CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA  
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCC  
CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT  
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC  
TGA CTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG  
25 GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA  
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA  
CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA  
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC  
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC  
30 TGCCCTTGTTCCCTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA  
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGGAAC  
ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA

GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC  
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG  
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT  
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG  
5 GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG  
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT  
GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAAGTGTGAGAGACAAGTGGCGTAA  
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT  
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCC  
10 TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT  
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG  
CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC  
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC  
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC  
15 TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT  
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC  
TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT  
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG  
CGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG  
20 AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT  
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC  
ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT  
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCCCTGAG  
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA  
25 CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG  
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA  
GTACTATGGCTTCTCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC  
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG  
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC  
30 TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

hat. Die oben dargestellten Sequenz ist erfindungsgemäß die murine OTRPC4 cDNS Sequenz.



In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein rekombinanter Vektor dadurch gekennzeichnet, daß er eine erfindungsgemäße Nukleinsäure, wie oben beschrieben, enthält. Beispiele für erfindungsgemäße Vektoren sind virale Vektoren wie z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus und Adenovirus. Vektoren zur Verwendung in COS-Zellen besitzen den Simian Virus (SV) 40 „origin of replication“ und ermöglichen hohe Kopienzahlen der Plasmide. Vektoren zur Verwendung in Insektenzellen sind beispielsweise *E. coli* Transfervektoren und enthalten z.B. als Promotor die für Polyhedrin kodierende DNA.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßer rekombinanter Vektor dadurch gekennzeichnet, daß er ein Expressionsvektor ist.

Noch eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist ein Wirt, dadurch gekennzeichnet, daß er einen erfindungsgemäßen Vektor enthält. Ein erfindungsgemäßer Wirt exprimiert ein erfindungsgemäßes OTRPC4 Polypeptid beispielsweise an der Zelloberfläche, z.B. in die Plasmamembran integriert. Die erfindungsgemäßen Wirte können transient oder stabil mit einem der besagten Vektoren transfiziert sein. Ein solcher Wirt ist exemplarisch in Beispiel 1, Abbildung 4 der Erfindung beschrieben.

Noch eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist ein erfindungsgemäßer Wirt, welcher eine eukaryontische Wirtszelle ist. Erfindungsgemäße eukaryontische Wirtszellen umfassen Pilze, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma*. Ein weiterer bevorzugter erfindungsgemäßer Wirt ist eine Insektenzelle (z.B. aus *Spodoptera frugiperda* Sf-9, mit einem Baculovirus-Expressionssystem). Erfindungsgemäße Zellen umfassen auch Oozyten, beispielsweise von Fröschen oder Kröten. Erfindungsgemäße Wirte können auch Pflanzenzellen sein, z.B. von *Nicotiana tabacum*. In Säugerzellen und -zelllinien werden die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide besonders gut exprimiert. Daher ist ein bevorzugter erfindungsgemäßer Wirt eine Säugerzelle. Beispiele für erfindungsgemäße Säugerzellen sind HEK293-, HeLa-, COS-, BHK-, CHO-Zellen.

Ganz besonders bevorzugt ist ein erfindungsgemäßer Wirt daher eine Sf9-, HEK293- oder HeLa- Zelle.

Bevorzugt ist ein erfindungsgemäßer Wirt ein Bakteriophage. Beispielhaft sei Baculovirus genannt.

Ein weiterer erfindungsgemäßer Wirt ist eine prokaryontische Wirtszelle. Beispiele für erfindungsgemäße prokaryontische Wirtszellen sind *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis*.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Polypeptid,  
5 das durch eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kodiert wird oder ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine Untereinheit, eine Variante aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes oder eine Glykosilierungsvariante hiervon. Im Rahmen dieser Erfindung wird unter OTRPC4-Polypeptid oder Fragment hiervon eines oder mehrere der hier beschriebenen Polypeptid(e) verstanden, d.h. ein Polypeptid ausgewählt  
10 aus Fragmenten, allelen Varianten, funktionelle Untereinheiten, Varianten aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes, ein chemisches Derivat hiervon, ein Fusionsprotein mit besagtem Polypeptid oder eine Glykosilierungsvariante von OTRPC4. Erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptide sind bevorzugt eukaryontische Polypeptide, besonders bevorzugt humane oder murine, aber auch aus der Ratte, Hamster, Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe,  
15 Hund, Katze, Affen sowie aus weiteren dem Fachmann bekannte Eukaryonten. OTRPC4 im Rahmen dieser Erfindung ist ein neuer Kationenkanal, der gegenüber den aus dem Stand der Technik bekannten Kationenkanälen die vorteilhafte Eigenschaft aufweist, daß er durch Veränderungen der Osmolarität des extrazellulären Mediums reguliert wird. Er stellt daher eine gegenüber aus dem Stand der Technik bekannten Kationenkanälen einen völlig neue  
20 Generation von Kationenkanälen dar, die z.B. als Osmosensoren für die Regulation des Zellvolumens verantwortlich sind. Durch Erniedrigung der Osmolarität wird die Kanalaktivität stimuliert und durch Erhöhung gehemmt. Z.B. ist der Kanal bei physiologischer Osmolarität von ca. 300 mosmol/l konstitutiv aktiv. Der Kanal ist nichtselektiv in seiner Ionenpermeabilität, d.h. durchgängig für alle Kationen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  
25  $\text{Ca}^{2+}$ ) und zeigt z.B. eine gewisse Präferenz für  $\text{Ca}^{2+}$  ( $P_{\text{Ca}}/P_{\text{Na}}$ : ca. 6).

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter wird ein Teil des erfindungsgemäßen Polypeptides verstanden.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein  
30 erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter werden Polypeptide verstanden, die weitgehend ähnlich wie OTRPC4 sind und die dieselbe biologische Aktivität wie OTRPC4 aufweisen

oder eine inhibitorische Aktivität für OTRPC4 haben. Eine Variante von OTRPC4 kann durch Substitution, Deletion oder Addition einer oder mehrerer Aminosäuren von OTRPC4 sich unterscheiden, bevorzugt durch 1 bis 10 Aminosäuren. Beispielsweise werden unter funktionelle Varianten weitere Vertreter der OTRPC4-Familie verstanden, die ebenfalls die oben beschriebene vorteilhafte Eigenschaft der Regulierung der Kanalaktivität durch Osmolarität aufweisen.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Untereinheit des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Oft sind Ionenkanäle aus Untereinheiten zusammengesetzt, beispielsweise der AMPA-Rezeptor. Entsprechend werden von der Erfindung auch Untereinheiten des OTRPC4-Kationenkanals umfaßt.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes ist.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein chemisches Derivat des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist. Hierunter werden Moleküle verstanden, die aus den erfindungsgemäßen OTRPC4 Polypeptiden durch chemische Reaktionen hergestellt werden, beispielsweise durch Iodinierung, Acetylierung, Bindung an ein Effektormolekül oder Radioisotop oder an ein Toxin.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches ein Fusionsprotein aus dem nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 und einem weiteren Protein ist. Ein solches Fusionsprotein kann beispielsweise durch rekombinante Expression der erfindungsgemäßen OTRPC4 Nukleinsäure, die an eine weitere Nukleinsäure fusioniert ist, die sämtliche kodierende Information „in frame“ enthält, hergestellt werden. Dies kann beispielsweise ein Markerprotein oder ein Reporterprotein wie GFP oder LacZ sein. Weitere Fusionspartner sind dem Fachmann bekannt.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein erfindungsgemäßes Polypeptid, welches eine Glykosilierungsvariante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.

Die Erfindung umfaßt Verfahren zur Herstellung von erfindungsgemäßen Polypeptiden, dadurch gekennzeichnet, daß ein erfindungsgemäßer Wirt kultiviert wird und besagtes Polypeptid exprimiert wird. Besagte Wirte können z.B. stabil oder transient mit einem Vektor oder einem Expressionsvektor, der eine für ein OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodierende Nukleinsäure enthält, transfiziert werden. Beispielsweise wird das erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment an der Zelloberfläche des Wirtes exprimiert. Besagtes Polypeptid kann aber auch in das Medium sezerniert werden. Die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide oder -Fragmente können in einem erfindungsgemäßen Verfahren beispielsweise in Pilzen, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma* mit Vektoren, die zur Oberflächenexpression führen, hergestellt werden.

Auch mit Insektenzellen kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes durchgeführt werden, z. B. als transientes oder stabiles Expressionssystem oder Baculovirus-Expressionssystem. Hierbei werden z.B. Sf-9 Insektenzellen mit z.B. *Autographa californica nuclear polyhedrosis virus* (AcNPV) oder verwandten Viren infiziert. Die oben beschriebenen *E. coli* Transfervektoren enthalten z.B. als Promotor die für Polyhedrin kodierende DNA, hinter der die für das erfindungsgemäße OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodierende DNA hineinkloniert wird. Nach Identifikation eines korrekten Transfervektorklones in *E. coli* wird dieser zusammen mit unvollständiger Baculovirus-DNA in eine Insektenzelle transfiziert und rekombiniert mit der Baculovirus-DNA, um funktionsfähige Baculoviren zu bilden. Mit Hilfe starker Insektenzellpromotoren werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren große Mengen des erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes gebildet. Insektenzellexpressionssysteme für die Expression von OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment sind kommerziell erhältlich.

Auch ein Säugetierexpressionssystem, z.B. in einem erfindungsgemäßen Wirt, z.B. die HEK293-Zelle oder die Hela-Zelle, die beispielsweise in einem Expressionsvektor eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kodierend für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon enthält, kann zur Expression des OTRPC4-Kationenkanals verwendet werden, wobei der besagte

Wirt unter dem Fachmann bekannten Bedingungen kultiviert wird und das OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment z.B. an der Zelloberfläche exprimiert wird. Vorteilhaft an Säugetierexpressionssystemen ist, daß sie sehr gute Glykosilierungs- und Faltungsbedingungen ermöglichen. Säugerzellen, sind mit transienten Expressionssystemen, stabilen Expressionssystemen und mit viralen Expressionssystemen z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus, Adenovirus verwendbar, die kommerziell erhältlich sind. Auch transgene Tiere z. B. Kühe, Ziegen, Mäuse sind geeignet für ein erfindungsgemäßes Verfahren. Auch transgene Pflanzen wie *Nicotiana tabacum* (Tabak) sind in einem erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbar. Diese eignen sich insbesondere für die Herstellung von erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment. Nach genomischer Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, welche für ein erfindungsgemäßes OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment kodiert, die an eine Signalsequenz fusioniert ist, kann die Oberflächenexpression des OTRPC4-Polypeptides oder -Fragmentes oder die Sekretion in den interstitiellen Raum erreicht werden.

Die Herstellung mit prokaryontischen Expressionssystemen wie *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis* eignet sich bevorzugt für erfindungsgemäße OTRPC4-Fragmente, aber auch für das ganze OTRPC4-Polypeptid. Die erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptide werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren entweder bevorzugt an der Oberfläche, beispielsweise in die Außenhülle, d.h. eine der beiden bakteriellen Zellmembranen oder die Pyptidoglycanschicht der Außenhülle bei Gram-negativen Bakterien oder in die Zellmembran bei Gram-positiven Bakterien integriert, oder intrazellulär, z.B. in Inklusionskörpern oder durch periplasmatische Sekretion in Gram-negativen Bakterien mittels hierfür geeigneten Vektoren hergestellt.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Antikörperprotein, dadurch gekennzeichnet, daß es spezifisch für ein erfindungsgemäßes Polypeptid ist. Daher bindet das erfindungsgemäße Antikörperprotein an ein Epitop von OTRPC4 oder an ein Epitop einer der oben beschriebenen Varianten.

Für viele Anwendungen der erfindungsgemäßen Antikörper sind möglichst kleine antigenbindende, d.h. OTRPC4-bindende Einheiten wünschenswert. Daher ist in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein Fab-Fragment (Englisch „Fragment antigen-binding = Fab“). Diese erfindungsgemäßen OTRPC4-spezifischen Antikörperproteine bestehen aus den variablen Regionen beider

Ketten, die durch die anschließende konstante Region zusammengehalten werden. Diese können durch Protease-Verdau wie z.B. mit Papain aus herkömmlichen Antikörpern entstehen, ähnliche Fab-Fragmente können jedoch auch mittlerweile gentechnologisch hergestellt werden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein  
5 erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein  $F(ab')_2$  Fragment, welches durch proteolytische Spaltung mit Pepsin hergestellt werden kann.

Mit Hilfe von gentechnischen Methoden ist es möglich, verkürzte Antikörperfragmente herzustellen, die nur noch aus den variablen Regionen der schweren (VH) und der leichten Kette (VL) bestehen. Diese werden als Fv-Fragmente (Englisch: „Fragment variable“ =  
10 Fragment des variablen Teils) bezeichnet. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßes, OTRPC4-spezifisches Antikörpermolekül ein solches Fv-Fragment. Da diesen Fv-Fragmenten die kovalente Verknüpfung beider Ketten durch die Cysteine der konstanten Ketten fehlt, werden die Fv-Fragmente oft stabilisiert. Vorteilhaft ist es, die variablen Regionen der schweren und der leichten Kette durch ein kurzes  
15 Peptidstück, beispielsweise von 10 bis 30 Aminosäuren, bevorzugt 15 Aminosäuren, zu verknüpfen. Hierdurch wird ein einziger Peptidstrang aus VH und VL, verbunden durch einen Peptidlinker, erhalten. Ein solches Antikörperprotein wird als Fv-Einzelkette oder Englisch: „single-chain-Fv“ (scFv) bezeichnet. Beispiele aus dem Stand der Technik für solche scFv-Antikörperproteine sind in Huston et al. (1988, PNAS 16: 5879-5883)  
20 beschrieben. Daher ist in noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes, OTRPC4-spezifisches Antikörperprotein eine Fv-Einzelkettenprotein (scFv).

Es wurden in den letzten Jahren verschiedene Strategien entwickelt, um scFv als multimererivate herzustellen. Dies sollte insbesondere zu rekombinanten Antikörpern mit  
25 verbesserten Pharmakokinetik- und Biodistributionseigenschaften sowie mit erhöhten Bindungsaviditäten führen. Um eine Multimerisierung der scFv zu erzielen, wurden scFv als Fusionproteine mit Multimerisierungsdomänen hergestellt. Als Multimerisierungsdomänen dienen z. B. die CH3-Region eines IgG oder *coiled coil*-Strukturen (Helix-Strukturen) wie *Leucin-zipper*-Domänen. Es gibt jedoch auch Strategien bei denen die Interaktion zwischen  
30 den VH/VL-Regionen des scFv zur Multimerisierung herangezogen werden (z. B. Di-, Tri- und Pentabodies). Daher ist in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein für ein OTRPC4-Epitop spezifisches Diabody-

Antikörperfragment. Unter Diabody versteht der Fachmann ein bivalentes homodimeres scFv-Derivat (Hu et al., 1996, PNAS 16: 5879-5883). Die Verkürzung des *Linkers* in einem scFv-Molekül auf 5- 10 Aminosäuren führt zur Bildung von Homodimeren bei denen eine inter-Ketten VH/VL-Zusammenlagerung stattfindet. Diabodies können zusätzlich durch den  
5 Einbau von Disulfidbrücken stabilisiert werden. Beispiele aus dem Stand der Technik für Diabody-Antikörperproteine finden sich bei Perisic et al. (1994, Structure 2: 1217-1226).

Unter Minibody versteht der Fachmann ein bivalentes, homodimeres scFv-Derivat. Es besteht aus einem Fusionsprotein, das die CH3-Region von einem Immunglobulin, bevorzugt IgG, ganz besonders bevorzugt IgG1 als Dimerisierungsregion enthält, die über  
10 eine *Hinge*-Region (z.B. ebenfalls von IgG1) und eine *Linker*-Region mit dem scFv verbunden ist. Die Disulfidbrücken in der *Hinge*-Region werden meist in höheren Zellen und nicht in Prokaryonten ausgebildet. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein ein OTRPC4-spezifisches Minibody-Antikörperfragment. Beispiele aus dem Stand der Technik für Minibody-Antikörperproteine  
15 finden sich bei Hu et al. (1996, Cancer Res. 56: 3055-61).

Unter Triabody versteht der Fachmann ein: trivalentes homotrimeres scFv-Derivat (Kortt et al. 1997 Protein Engineering 10: 423-433). ScFv-Derivate bei denen VH-VL direkt ohne Linkersequenz fusioniert sind, führen zur Ausbildung von Trimeren.

Unter Tetravalent Miniantibody versteht der Fachmann ein tetravalentes homodimeres scFv-Derivat (Pack et al., 1995 J. Mol. Biol. 246: 28-34). Die Multimerisierung erfolgt durch  
20 tetramere *coiled coil*-Domäne.

Besonders bevorzugt ist ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein vollständig human.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von einem erfindungsgemäßen Antikörperprotein, welches die folgenden  
25 Schritte umfaßt: ein Wirt ausgewählt aus einer eukaryontischen oder prokaryontischen Zelle, welcher einen oder mehrere Vektoren mit einer oder mehreren Nukleinsäuren spezifisch für das Antikörperprotein enthält, wird unter Bedingungen, unter denen besagtes Antikörperprotein durch besagte Wirtszelle exprimiert wird, kultiviert und besagtes Antikörperprotein wird isoliert.

30 Die erfindungsgemäßen Antikörperproteine können in einem erfindungsgemäßen Verfahren auch in Pilzen, wie z. B. *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces*, *Trichoderma* mit Vektoren, die zur intrazellulären Expression oder zur Sekretion führen,

hergestellt werden. Auch mit Insektenzellen kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung der Antikörperproteine durchgeführt werden, z. B. als transientes oder stabiles Expressionssystem oder Baculovirus-Expressionssystem, vergleichbar wie oben beschrieben. Insektenzellexpressionssysteme für die Expression von Antikörperproteinen sind kommerziell erhältlich. Insektenzellexpressionssysteme eignen sich insbesondere für die erfindungsgemäßen scFv-Fragmente und Fab- bzw. F(ab')<sub>2</sub>-Fragmente und Antikörperproteine bzw. Fragmente hiervon, welche mit Effektormolekülen fusioniert sind, aber auch für vollständige Antikörpermoleküle.

Vorteilhaft an Säugetierexpressionssystemen ist, daß sie sehr gute Glykosilierungs- und Faltungsbedingungen ermöglichen, z.B. transiente Expressionssysteme, z. B. in COS-Zellen oder stabile Expressionssysteme z. B. BHK-, CHO-, Myelomzellen. Säugerzellen sind auch z. B. mit viralen Expressionssystemen z. B. Vaccinia, Semliki-Forest-Virus, Adenovirus verwendbar. Auch transgene Tiere z. B. Kühe, Ziegen, Mäuse sind geeignet für ein erfindungsgemäßes Verfahren. Auch transgene Pflanzen wie *Nicotiana tabacum* (Tabak) sind in einem erfindungsgemäßen Verfahren einsetzbar. Nach genomischer Integration der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, welche für ein erfindungsgemäßes Antikörperprotein kodiert, die an eine Signalsequenz fusioniert ist, kann die Sekretion des Antikörperproteins in den interstitiellen Raum erreicht werden. Die Herstellung mit prokaryontischen Expressionssystemen wie *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* oder auch *Proteus mirabilis* eignet sich bevorzugt für erfindungsgemäße Antikörperfragmente, wie Fab-, F(ab')<sub>2</sub>-, scFv-Fragmente, Minibodies, Diabodies und Multimere besagter Fragmente. Die Erfindungsgemäßen Antikörperproteine werden in einem erfindungsgemäßen Verfahren entweder intrazellulär, z.B. in Inklusionskörpern oder durch periplasmatische Sekretion in Gram-negativen Bakterien mittels hierfür geeigneten Vektoren hergestellt.

Ebenfalls von der Erfindung umfaßt ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Polypeptides zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren besagter Polypeptide.

Unter Blocker sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals hemmen.



Unter Aktivatoren sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals stimulieren.

5 Unter Modulatoren sind Substanzen zu verstehen, die durch Bindung an den OTRPC4-Kationenkanal selbst, durch Bindung an regulatorische Untereinheiten oder durch Interaktion mit der Zellmembran oder Teilen derselben die Ionenpermeabilität des Kanals verändern, z.B. die Selektivität des Kanals gegenüber von Kalzium und Natrium verändern.

Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren können ihre jeweilige pharmakologische  
10 Eigenschaften entfalten abhängig von physikalischen Einflüssen, wie z.B. pH, Temperatur und Ionenkonzentrationen des intra- oder extrazellulären Milieus oder auch abhängig von dem Aktivierungszustand des Kanals.

Weiterhin von der Erfindung umfaßt ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Wirtes zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4-Kanälen.

15 Ein weiterer, bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4, dadurch gekennzeichnet, daß ein erfindungsgemäßer Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, dadurch gekennzeichnet, daß ein Membranstrom gemessen wird, besagter  
20 Membranstrom mit einem Membranstrom verglichen wird, der bei besagtem Wirt nach Inkubation mit einer bekannten Kontrollsubstanz oder in Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird. Ein solches Verfahren ist exemplarisch in Beispiel 1, Abbildung 7 der Erfindung beschrieben.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes  
25 Verfahren worin besagter Aktivator an einen Kanal gebunden ist, besagter Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird und die Verdrängung des an den Kanal gebundenen Aktivator durch die Testsubstanz gemessen wird.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, worin ein erfindungsgemäßer Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird, die  
30 intrazelluläre Menge eines divalenten Kationes bestimmt wird und besagte Menge des divalenten Kationes mit der Menge besagten divalenten Kationes verglichen wird, die bei der Inkubation besagten Wirtes mit einer bekannten Kontrolle oder in der Abwesenheit der

Testsubstanz gemessen wird. Ein solches Verfahren ist exemplarisch in Beispiel 1 der Erfindung beschrieben.

Ein weiterer, ganz besonders bevorzugter Aspekt der Erfindung ist ein erfindungsgemäßes Verfahren, welches ein Hochdurchsatzmusterungstest (Englisch: „high throughput screening = HTS“) oder ein Ultrahochdurchsatzmusterungstest (Hochdurchsatzmusterungstest (Englisch: „ultra high throughput screening = UHTS“) ist. HTS bezieht sich im Rahmen der Erfindung auf ein experimentelles Verfahren, bei dem eine große Anzahl an Testsubstanzen gleichzeitig getestet werden. Vorzugsweise wird ein HTS-Verfahren in Mikrotiterplatten ausgeführt, teilweise oder vollständig automatisiert und an elektronische Geräte wie z.B. Computer zur Datenspeicherung, -Analyse und Interpretation mittels Bioinformatik angeschlossen. Bevorzugt werden zur Automatisierung Roboter eingesetzt, die eine große Anzahl von Mikrotiterplatten gleichzeitig handhaben können und mehrere tausend Tests pro Tag ausführen können. Vorzugsweise wird eine Testsubstanz auf eine erwünschte Aktivator-, Blocker- oder Modulatorfunktion in einem zellbasierten System mit einer erfindungsgemäßen Zelle getestet. Der Ausdruck HTS umfaßt auch Ultrahochdurchsatzmusterungstests (UHTS). Vorzugsweise werden besagte UHTS-Verfahren unter Verwendung von 384- oder 1536-Loch-Mikrotiterplatten, Submikroliter- und Subnanoliterpipettoren, verbesserten Plattenlesegeräten und Verfahren um Verdunstung zu verhindern, ausgeführt. HTS Verfahren sind beispielhaft in den Patenten US 5876946 A oder US 5902732 A beschrieben. Der Durchschnittsfachmann kann die oben und in den Beispielen beschriebenen Verfahren an ein HTS oder UHTS Format anpassen, ohne selbst erfinderisch tätig zu sein.

Ein HTS zur Identifizierung von Blockern, Aktivatoren oder Modulatoren des OTRPC4-Kanals kann erfolgen, wie in Beispiel 1 beschrieben, kann aber auch mit sogenannten induzierbaren Expressionssystemen durchgeführt werden, beispielsweise ein durch Tetracyclin induzierbares Plasmid (Gossen M, Bonin AL, Freundlieb S, Bujard H: Inducible gene expression systems for higher eukaryotic cells. Curr Opin Biotechnol 1994, 5, 516-20) oder ein durch den Ecdyson-Rezeptor induzierbares System (Invitrogen). Diese Systeme, aber auch andere, sind kommerziell erhältlich.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Aktivator von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Blocker von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

Noch ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Modulator von OTRPC4, auffindbar mit einem erfindungsgemäßen Verfahren.

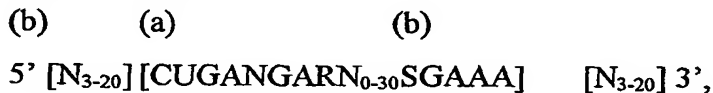
5 Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung umfaßt eine Anti-Sinn-Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an einen Teil einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.

Unter Anti-Sinn-Nukleinsäure (Englisch: „anti-sense nucleic acid“ oder auch „anti-sense oligonucleotide“) werden DNS oder RNS-Moleküle im Rahmen dieser Erfindung  
10 verstanden, die komplementär zu zumindest einem Teil eines erfindungsgemäßen, d.h. für ein OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA Molekül sind. Eine Definition von Anti-Sinn-Nukleinsäure findet sich auch im Stand der Technik (Weintraub HM, 1990 Scientific American, 262, 34-40). In der Zelle hybridisieren Anti-Sinn-Nukleinsäuremoleküle an die Korrespondierende mRNA und bilden ein  
15 Doppelstrangmolekül. Die erfindungsgemäßen Anti-Sinn-Nukleinsäuren interferieren mit der Translation der für OTRPC4-Polypeptid oder ein OTRPC4-Fragment kodierenden mRNA, da die Zelle besagte doppelsträngige mRNA nicht translatieren wird. Die zentrale Region der Anti-Sinn-Nukleinsäure im Rahmen dieser Erfindung enthält mindestens 14 Nukleotide, die komplementär zu der Ziel-RNS sind. Die Erfindung umfaßt auch Peptid-  
20 Nukleinsäuren, Phosphodiester-Anti-Sinn-Nukleinsäuren und Phosphothioat-Oligonukleotide, die komplementär zu zumindest einem Teil eines erfindungsgemäßen für ein OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA Molekül sind. Solche für andere Ziel-RNS spezifischen Substanzen sind aus dem Stand der Technik bekannt (Boado RJ et al., 1998 J Pharm Sci 87: 1308-1315.).

25 In Beispiel 1 (Tabelle 1) sind fünf Anti-Sinn-Sequenzen beispielhaft aufgeführt und die Kriterien, die zu der Auswahl dieser Sequenzen führten, dargestellt.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung umfaßt eine erfindungsgemäße Anti-Sinn-Nukleinsäure, die ein Ribozym ist. Ribozym im Rahmen dieser Erfindung ist ein RNS-Molekül, das spezifisch mit der Ziel-RNS, d.h. der erfindungsgemäßen für ein  
30 OTRPC4-Polypeptid oder –Fragment kodierenden mRNA interagieren und diese irreversibel an einer spezifischen Stelle schneiden kann. Vorzugsweise besitzt das erfindungsgemäße Ribozym eine zentrale Sequenz, die zur Ziel-RNS nicht komplementär ist und für dessen

katalytische Aktivität verantwortlich ist (katalytischer Bereich (a)) und zwei flankierende Sequenzen, die zu zwei benachbarten Sequenzen der Ziel-RNS im wesentlichen komplementär sind (Hybridisierungsbereich (b)), so die Bindung des Ribozyms über Basenpaarung und dadurch die selektive Spaltung der Ziel-RNS erlauben. Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Ribozyms kann durch folgende generelle Formel dargestellt werden:



worin N ein G, C, A oder U, R ein Purin und S ein Pyrimidin ist und worin die zentrale Region  $\text{N}_{0-30}$  der Sequenz (a) durch einen Linker ersetzt werden kann, der keine Nukleinsäure ist, nämlich beispielsweise eine Kohlenwasserstoffkette (s.a. Thomson et al., 1993, *Nucleic Acids Res* **21**, 5600-5603.). Die erfindungsgemäßen Ribozyme können beispielsweise ein „Hammerhead“- „Hairpin“- oder „Axehead“-Ribozym sein. Die Struktur von „Hammerhead“-Ribozymen ist dem Fachmann bekannt und auch beispielhaft in Symons RH (1992, *Annu Rev Biochem* **61**, 641-671) bzw. Rossi JJ (1993, *Methods* **5**, 1-5.) beschrieben. „Hairpin“ Ribozyme können Ziel-RNS wirksam in trans spalten, wobei der Wirkmechanismus ähnlich dem „Hammerhead“ Ribozym ist (s. a. Rossi, *supra*, und Hampel et al., 1990, *Nucleic Acids Res* **18**, 299-304.). Auch „Axehead“-Ribozyme können wirksam in trans spalten. Sie sind beispielsweise in Been MD et al., (1994 *Trends Biochem Sci* **19**, 251-256) und Wu HN et al. (1993, *Nucleic Acids Res* **21**, 4193-4199) beschrieben. Der Fachmann kann anhand der aus dem Stand der Technik bekannten Daten die für die Spaltung erforderlichen Minimalsequenzen bzw. -struktur ermitteln und Ribozyme konstruieren, die die für die Zwecke der Erfindung erforderlichen Eigenschaften aufweisen. Besagtes Ribozym kann auch im Rahmen der Erfindung modifiziert werden, um eine erhöhte Nukleasenresistenz zu erhalten. Beispiele hierfür sind die Substitution der 2'-OH Gruppen der Ribose durch 2'-H, 2'-O-methyl, 2'-O-allyl, 2'-Fluor or 2'-Aminogruppen (Paolella et al., 1992, und Pieken et al., 1991) oder die Modifikation von Phosphodiesterbindungen, z.B. indem ein oder zwei Sauerstoffatome gegen Schwefel ausgetauscht werden (Phosphorthioat bzw. Phosphordithioat; Eckstein, 1985, und Beaton et al., in: Eckstein, F. (Hrsg.) *Oligonucleotides and analogues – A practical approach –* Oxford, JRL Press (1991), 109-135) bzw. durch eine Methylgruppe (Methylphosphonat; Miller, ebenda, 137-154). Weitere Modifikationen umfassen die Konjugation der RNS mit

poly-L-Lysin, Polyalkylderivaten, Cholesterin oder PEG. Vorzugsweise enthalten die erfindungsgemäßen Ribozyme mindestens eine der vorstehend beschriebenen Phosphatmodifikationen und/oder mindestens eine der vorstehend beschriebenen Ribosemodifikationen.

5 Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine erfindungsgemäße Nukleinsäure sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine erfindungsgemäße Anti-Sinn-Nukleinsäure sowie pharmazeutisch akzeptable  
10 Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein erfindungsgemäßes Polypeptid sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.

Pharmazeutisch akzeptable Trägerstoffe oder Hilfsstoffe in dieser Erfindung können  
15 physiologisch akzeptable Verbindungen sein, die beispielsweise die Absorption von OTRPC4-Aktivator, -Blocker oder -Modulatoren stabilisieren oder verbessern. Solche physiologisch akzeptable Verbindungen umfassen beispielsweise Kohlenhydrate wie Glukose, Sucrose oder Dextrane, Antioxidantien, wie Ascorbinsäure oder Glutathion, Chelatbildner, niedermolekulare Verbindungen oder andere Stabilisatoren oder Hilfsstoffe  
20 (s. a. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Auflage, Mack Publ., Easton.). Der Fachmann weiß, daß die Auswahl eines pharmazeutisch akzeptablen Trägerstoffes z.B. von der Administrationsroute der Verbindung abhängig.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung, die einen erfindungsgemäßen Vektor sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder  
25 Hilfsstoffe enthält. Die besagte pharmazeutische Zusammensetzung kann auch einen erfindungsgemäßen Vektor für die Gentherapie enthalten und kann zusätzlich als Hilfsstoff ein kolloidales Dispersionssystem oder Liposomen für eine zielgerichtete Applikation der pharmazeutischen Zusammensetzung umfassen.

Ein weiterer, wichtiger Aspekt der Erfindung ist eine pharmazeutische Zusammensetzung,  
30 die einen erfindungsgemäßen Wirt sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält. Auch ein Wirt oder eine Wirtszelle, die einen erfindungsgemäßen Vektor

enthält, kann in einer pharmazeutischen Zusammensetzung im Rahmen dieser Erfindung, beispielsweise zur Gentherapie, verwendet werden.

Ein Beispiel für ein zielgerichtetes Applikationssystem, z.B. für erfindungsgemäße Anti-Sinn-Oligonukleotide oder Ribozyme ist besagtes kolloidales Dispersionssystem. Kolloidale  
5 Dispersionssysteme umfassen Makromolekülkomplexe, Nanokapseln, Kügelchen und Lipid-basierte Systeme einschließlich Öl-in-Wasser Emulsionen, Mizellen, gemischte Mizellen und Liposomen oder Liposom-Formulierungen. Das bevorzugte kolloidale System der Erfindung sind Liposomen. Liposomen sind artifizielle Membranvesikel, die als Vehikel in vitro und in vivo nützlich sind. Diese Formulierungen können kationische, anionische oder neutrale  
10 Ladung tragen. Es wurde gezeigt, daß große unilamellare Vesikel („large unilamellar vesicles“ LUV), die eine Größe von 0.2-4.0 µm haben, einen Großteil einer wässrigen Pufferlösung mit großen Makromolekülen umschließen können. RNS, DNS und intakte Virione können in die wässrige Phase im Inneren eingekapselt werden und in einer biologisch aktiven Form an das Ziel transportiert werden (Fraley R et al., 1981, Trends  
15 Biochem Sci 6, 77-80). Neben Säugerzellen haben sich Liposomen auch für den zielgerichteten Transport von Nukleotiden in pflanzlichen-, Hefe- und bakteriellen Zellen als geeignet erwiesen. Um ein effizientes Gentransfervehikel zu sein, sollten die folgenden Eigenschaften vorhanden sein: (1) die Gene sollten mit einer hohen Effizienz eingeschlossen werden, ohne dabei ihre biologische Aktivität zu verringern; (2) es sollte präferentielle und substantielle Bindung an die Zielzelle im Vergleich zu nicht-Zielzellen erfolgen; (3) die  
20 wässrige Phase des Vehikels sollte mit hoher Effizienz in das Zielzellzytoplasma transferiert werden; und (4) die genetische Information sollte akkurat und effizient exprimiert werden (Mannino RJ et al., 1988, BioTechniques 6, 682-690).

Die Zusammensetzung der Liposomen besteht üblicherweise aus einer Kombination von  
25 Phospholipiden, insbesondere Hoch-Phase-Übergangstemperatur-Phospholipide (Englisch “high-phase-transition-temperature“), z.B. in Kombination mit Steroiden, z.B. Cholesterin. Andere Phospholipide oder andere Lipide können auch verwendet werden. Die physikalischen Charakteristika der Liposomen hängen vom dem pH, der Ionenkonzentration und der Gegenwart divalenter Kationen ab.

30 Die pharmazeutische Zusammensetzung der gegenwärtigen Erfindung kann auch einen erfindungsgemäßen Vektor als nackten „Genexpressionsvektor“ enthalten. Dies bedeutet, der erfindungsgemäße Vektor ist nicht mit einem Hilfsstoff für zielgerichtete Applikation

assoziiert (z.B. Liposomen, kolloidale Partikel etc.). Ein prinzipieller Vorteil von nackten DNS-Vektoren ist das Fehlen einer Immunantwort, die durch den Vektor selbst hervorgerufen wird.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Unter Schock wird im Rahmen dieser Erfindung ein pathophysiologischer Zustand verstanden, der zu einer generalisierten schwerwiegenden Reduktion der Gewebepfusion und einer konsekutiven Gewebeschädigung führt.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Anti-Sinn-Nukleinsäure zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Vektors zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen Wirts zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz und und Schock. Dies sind beispielsweise andere pathophysiologische Zustände, die mit einer Erhöhung oder Erniedrigung der extrazellulären Osmolarität einhergehen, wie z.B. Schockzustände unterschiedlicher Genese, wie z.B. kardiogener, 5 metabolischer, septischer, anaphylaktischer Schock oder Schockzustände ausgelöst durch Verbrennungen oder Polytraumata.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich zu seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure (Transgen) enthält. Hierunter wird ein nicht menschliches, transgenes Säugetier verstanden, das zusätzlich zu seinem Genom eine erfindungsgemäße für OTRPC4 bzw. ein Fragment hiervon kodierende Nukleinsäuresequenz stabil in einen Teil seiner Körperzellen (Chimäre) oder in alle Körperzellen integriert hat und das OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment 15 exprimiert. Dem Fachmann sind transgene Säugetiere bekannt, die für andere Sequenzen transgen sind (s.a. Schenkel, J., Spektrum Akad. Verl., 1995). Erfindungsgemäße transgene Säuger sind beispielsweise transgene Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders bevorzugt sind Mäuse.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure inaktiviert (Gen-Knock-out) ist. Hierunter wird ein nicht menschliches, sog. Knock-out Säugetier verstanden, in dessen Genom die einer erfindungsgemäßen, für OTRPC4 bzw. ein Fragment hiervon kodierende Nukleinsäuresequenz entsprechende endogene Nukleinsäuresequenz 25 inaktiviert ist und in der kein oder nur geringe Mengen an OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment hiervon exprimiert werden. Geringe Mengen bedeutet, daß die Expression von OTRPC4-Polypeptid oder -Fragment um mindestens 50%, bevorzugt über 50 bis 80%, besonders bevorzugt über 80 bis 100% gegenüber vergleichbaren, nicht knock-out Säugern reduziert ist. Die Inaktivierung erfolgt oft durch Einklonierung einer Reportersequenz, 30 beispielsweise des Gens für Neomycinresistenz. Dem Fachmann sind weitere knock-out Säugetiere bekannt, bei denen andere Sequenzen inaktiviert sind. Erfindungsgemäße knock-out Säuger sind beispielsweise knock-out Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber



auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders bevorzugt sind Mäuse. Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Knock-out Säugers sind unten beschrieben. Die Konstruktion eines rekombinanten Vektors für einen konditionellen Knock-out ist exemplarisch in  
5 Beispiel 1 beschrieben.

Noch ein wesentlicher Aspekt der Erfindung ist ein nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine erfindungsgemäße Nukleinsäure modifiziert (Gen-Knock-in) ist. Diese Modifikation kann mittels homologer Rekombination der kodierenden Nukleinsäure erfolgen und führt dazu, daß in diesem Säuger beispielsweise ein  
10 OTRPC4-Polypeptid bzw. Fragment hiervon mit veränderten Eigenschaften exprimiert wird. Dies kann z.B. durch eine Mutation in einem kleinen Teil der kodierenden Nukleinsäure erfolgen. Erfindungsgemäße knock-out Säuger sind beispielsweise Knock-in Nagetiere, wie Ratten, Mäuse und Hamster, aber auch Ziegen, Rinder, Schweine, Schafe sowie weitere dem Fachmann bekannte nicht menschliche Säuger. Ganz besonders  
15 bevorzugt sind Mäuse. Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Knock-in Säugers sind unten beschrieben.

Die erfindungsgemäßen nicht menschlichen transgenen bzw. knock-out bzw. knock-in Säuger eignen sich hervorragend, die Funktion des OTRPC4-Genes bzw. -Polypeptides zu analysieren. Hierbei können jeweils die erfindungsgemäßen Säuger mit Säugern derselben  
20 Spezies oder vorteilhafterweise desselben Wurfes („littermates“) verglichen werden und dadurch die Funktion des erfindungsgemäßen Polypeptides untersucht werden.

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem  
25 Vektor transfiziert werden, der eine erfindungsgemäße Nukleinsäure sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA, des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- b) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt a) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres  
30 überführt werden

- c) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt b) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt a) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Embryonale Stammzellen (ES) lassen sich durch Kultivierung der inneren Zellmasse von Blastozysten gewinnen und in Gewebekultur vermehren. Zum Zwecke der Erfindung wird die Differenzierung der Stammzellen verhindert, in dem man sie auf Nährzellen aus Fibroblasten kultiviert oder dem Kulturmedium Leukämie-inhibierenden-Faktor (LIF) zusetzt. Das Einschleußen von erfindungsgemäßer Nukleinsäure in ES Zellen, beispielsweise DNS kodierend für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon wird beispielsweise mittels Transfektion, Retrovirusinfektion oder Elektroporation durchgeführt. Ein solcher Vektor trägt beispielsweise das Neomycin-Gen, das Resistenz gegenüber G418 verleiht. Damit können erfolgreich transfizierte embryonale Stammzellen identifiziert werden, indem dem Kulturmedium G418 zugesetzt wird. Nur erfolgreich transfizierte ES können unter diesen Bedingungen wachsen. Solche transfizierte ES werden beispielsweise in Blastozysten wieder überführt und diese werden in die Keimbahn eines weiblichen erfindungsgemäßen Säugers überführt. Die mutierten Zellen werden in den sich entwickelnden Embryo integriert und nehmen an der Entwicklung aller Gewebe teil. Hierdurch gelangt das erfindungsgemäße Transgen in die Keimbahn. Es bilden sich chimäre Tiere, die z.B. durch vorherige Auswahl von ES-Zellen und Empfängerblastozysten von Tieren unterschiedlicher Fellfarbe charakterisiert werden können. Durch mehrfache Züchtung der chimären Tiere erhält man homozygote Tiere, die das Transgen in jedem Gewebe exprimieren.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren zur Herstellung von nicht menschlichen transgenen Säugern umfaßt die Isolierung von befruchteten Eizellen, die Mikroinjektion von erfindungsgemäßer, für OTRPC4 oder ein Fragment hiervon kodierender Nukleinsäure, die Implantation besagter befruchteter Eizellen in die Keimbahn eines pseudoschwangeren, weiblichen Tieres besagten nicht menschlichen Säugers und die Untersuchung der Nachkommen besagten weiblichen Tieres mit einem männlichen Tier derselben Art auf Expression des Transgenes. Die durch Mikroinjektion eingebrachte Nukleinsäure, bevorzugt DNS, integriert sich oft an anderer Stelle als die vergleichbare endogene Nukleinsäure, wird meist jedoch genauso exprimiert. Besagte erfindungsgemäße Nukleinsäure kann in einer, aber auch in zahlreichen, d.h. 2 bis mehreren hundert oder tausenden Kopien in das Genom

integriert sein. Details zu Verfahren zur Herstellung von transgenen, nicht-menschlichen Säugern sind dem Fachmann bekannt (s.a. Schenkel, J., Spektrum Akad. Verl., 1995).

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- 5 d) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz inaktiviert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht
- 10 menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- e) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt d) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden.
- f) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt e) mit einem
- 15 männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt d) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Um einen erfindungsgemäßen Säuger herzustellen, bei dem das endogene Gen, das einer erfindungsgemäßen OTRPC4 Nukleinsäuresequenz entspricht oder eine solche umfaßt, durch sogenanntes knock-out inaktiviert ist, wird besagtes Gen durch homologe

20 Rekombination angesteuert und inaktiviert. Unter homologer Rekombination versteht der Fachmann Verfahren, die es ermöglichen, Nukleinsäure z.B. DNS gezielt in Gene einzubauen. Eine klonierte Kopie des endogenen Genes wird durch eine funktionslose Kopie ersetzt. Beispielsweise wird die eingeschleuste Kopie durch eine eingefügte Kopie eines oder mehrerer Antibiotikumresistenzgene(s) unterbrochen, was zur Inaktivierung

25 führt. Beispielsweise kann die Sequenz für das Zielgen durch das Neomycinresistenzgen unterbrochen sein. Beispielsweise durch Einbringen Herpes-simplex Virus Thymidinkinase (HSV-tk), z.B. am Ende des Konstruktes, können diejenigen Zellen identifiziert werden, bei denen homologe Rekombination stattgefunden hat. Im Rahmen der Erfindung wird eine in einen geeigneten Vektor klonierte, inaktivierte Kopie einer für OTRPC4 oder ein Fragment

30 hiervon kodierender Nukleinsäure in embryonale Stammzellen (wie oben beschrieben) mit einer geeigneten Methode, d.h. durch Transfektion, Retrovirusinfektion oder Elektroporation in die ES eingeschleust. Die eingeschleuste Nukleinsäure geht in einem Teil

der ES mit der entsprechenden zellulären Kopie des OTRPC4 Genes eine homologe Rekombination ein und ersetzt das Gen durch die erfindungsgemäße, eingeführte Nukleinsäure. Beispielsweise können mittels des Antibiotikums G418 und der antiviralen Substanz Ganciclovir diejenigen ES identifiziert werden, bei denen homologe  
5 Rekombination stattgefunden hat. ES, bei denen homologe Rekombination erfolgt ist, werden in eine Blastozyste injiziert, die in den Uterus eines weiblichen nicht menschlichen Säugers der selben Art wie der ES eingesetzt. Es bilden sich chimäre Tiere, die z.B. durch vorherige Auswahl von ES-Zellen und Empfängerblastozysten von Tieren unterschiedlicher Fellfarbe charakterisiert werden können. Durch mehrfache Züchtung der chimären Tiere  
10 erhält man homozygote Tiere, bei denen das Zielgen vollständig in jedem Gewebe inaktiviert ist.

Ebenso von der Erfindung umfaßt sind Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

- g) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem  
15 Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine erfindungsgemäße Nukleinsäure unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz modifiziert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht
- h) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt g) isoliert werden und diese in die  
20 Keimbahn ein weibliches Tier des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden
- i) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt h) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus  
25 Schritt g) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

Das Verfahren zur Herstellung von Knock-in Tieren wird in Anlehnung an das Verfahren zur Herstellung von Knock-out Tieren durchgeführt mit dem Unterschied, daß das Zielgen nicht inaktiviert, sondern modifiziert wird.

Das folgende Beispiel soll dem Verständnis der Erfindung dienen und in keiner Weise als  
30 limitierend für die Breite der Erfindung angesehen werden.

## Beispiel 1

### Struktur eines OTRPC4-Kanals

Im nachfolgenden Beispiel wird exemplarisch die Klonierung und Struktur eines erfindungsgemäßen OTRPC4-Polypeptides bzw. OTRPC4-Kationenkanals beschrieben. Die Beschreibung bzw. Verwendung des Begriffes OTRPC4-DNA, -RNA, Protein oder -Kanal soll in keiner Weise limitierend für die Breite der Erfindung gesehen werden, sondern nur dazu dienen, die Erfindung näher zu illustrieren. Weitere OTRPC4-DNA, -RNA, -Proteine oder -Kanäle sind in der Beschreibung dargestellt.

Die mRNA-Expression wurde durch Northern-Blot-Hybridisierungen mit EST-Fragmenten (Englisch EST = „expressed sequence tag“) AA139413 und W53556 untersucht. (hinterlegt in der Genbank). Ein RNA-Trankript einer Länge von 3,3 kb vor allem in Leber, Herz, Niere und Testis exprimiert wird, wurde identifiziert (Abbildung 1b). Aus der aus der Niere einer Maus aufgereinigten RNA wurde mit Hilfe der RACE-PCR-Methode eine cDNA kloniert mit einer Länge von 3277 bp, die einen offenen Leserahmen von 2616 bp enthält (siehe erfindungsgemäße Sequenzen, supra und Ansprüche 19 und 20). Die genomische Organisation der murine Sequenz von OTRPC4 wurde durch Sequenzierung der Intron-Exon-Übergänge geklärt und ist beispielhaft in Abbildung 2 dargestellt. In situ Hybridisierungen mit einem Fragment aus dem kodierenden Bereich der OTRPC4-DNA zeigten eine hohe Expression der OTRPC4-RNA im distalen Konvolut der Niere, aber auch Plexus choreoideus in den Hirnventrikeln (Abbildung 3).

Die cDNA von OTRPC4 wurde in ein eukaryotisches Expressionsplasmid kloniert, das C-terminal ein GFP-Fusionsanteil (GFP=„green fluorescent protein“ grün fluoreszierendes Protein) enthielt (pEGFP-N1). Dieses Plasmid wurde für die nachfolgenden Expressionsstudien verwendet. Von der Nukleotidsequenz kann abgeleitet werden, daß das OTRPC4-Protein beispielsweise aus 871 Aminosäuren bestehen kann und sechs mögliche transmembranäre Segmente enthält mit einer Sequenz, zwischen Segment 5 und 6, die möglicherweise für eine Porenregion eines Kanals kodiert (Abbildung 1a).

Die Erfindung betrifft in einem weiteren Aspekt einen humanen OTRPC4 mit der Aminosäuresequenz:

MADSSSEGPRAGPGEVAELPGDESGTPGGAEFPLSSLANLFEGEDGSLSPSPADASRP  
 AGPGDGRPNLRMKFQGAFRKGVPNPIDLLESTLYESSVVPGPKKAPMDSLFDYGT  
 YRHHSSDNKRWRKKIIEKQPQSPKAPAPQPPPILKVFNRPILFDIVSRGSTADLDGLL  
 PFLTHKKRLTDEEFREPSTGKTCLPKALLNLSNGRNDTIPVLLDIAERTGNMREFIN  
 5 SPFRDIYYRGQTALHIAIERRCKHYVELLVAQGADVHAQARGRFFQPKDEGGYFYF  
 GELPLSLAACTNQPHIVNYLTENPHKKADMRRQDSRGNTVLHALVAIADNTRENT  
 KFTVKMYDLLLLKCARLFPDSNLEAVLNNDGLSPLMMAAKTGKIGIFQHIREVT  
 DEDTRHLSRKFKDWAYGPVYSSLYDLSSLDTCGEEASVLEILVYNSKIENRHEMLA  
 VEPINELLRDKWRKFGAVSFYINVVSYLCAMVIFTLTAYYQPLEGTPPYPYRTTVD  
 10 YLRLAGEVITLFTGVLFFFTNIKDLFMKKCPGVNSLFIDGSFQLLYFIYSVLVIVSAA  
 LYLAGEIAYLAVMVFALVLGWMNALYFTRGLKLTGTYSIMIQLFKDLFRFLLVY  
 LLMIGYASALVSLNPCANMKVCNEDQTNCTVPTYPSCRDSETFSTFLDLFKLTI  
 GMDLEMLSSTKYPVVFILLVTYIILTFVLLLNMLIALMGETVGQVSKESKHIWKL  
 QWATTILDIERSPVFLRKAFRSGEMVTVGKSSDGTDDRWCVRVDEVNWSHWNQ  
 15 NLGIINEDPGKNETYQYYGFSHTVGRLRRDRWSSVPRVVELNKNSNPDEVVVPL  
 DSMGNPRCDGHQQGYPRKWRTEDAPL

Nach transienter Transfektion (die mit Hilfe des FuGENE 6 Transfektionsreagenz  
 20 durchgeführt wurde) des Expressionplasmids kodierend für das OTRPC4-GFP-  
 Fusionprotein in HEK293-Zellen konnte 24–36 Stunden später eine gepunktete Fluoreszenz  
 in der Plasmamembran festgestellt werden. Damit konnte der Nachweis erbracht werden,  
 daß das GFP-Fusionsprotein und damit das OTRPC4-Kanal-Protein exprimiert wird und in  
 die Plasmamembran eingebaut wird.

25 Für die nachfolgenden Experimenten wurden HEK293-Zellen mit dem oben genannten  
 OTRPC4-enthaltenden Expressionsplasmid transient transfiziert und 24-36 Stunden später  
 zu nicht transfizierten Kontrollzellen verglichen.

#### **Northern-Blots zum Nachweis von OTRPC4 RNA in humanen Geweben**

30 Mit einem Sondenmix, basierend auf einem partiellen Klon, der aus einer humanen  
 Speicheldrüsen cDNA-Bank isoliert worden war, wurde ein kommerzieller Northern-Blot  
 der Firma Clontech hybridisiert. Das Sondengemisch bestand aus drei Fragmenten, die

durch Restriktion des Klon mit Stu I gewonnen worden waren. Die Fragmente waren 496 bp, 556 bp und 698 bp lang und entsprechen den drei 3' Stu I -Fragmenten der humanen DNS des OTRPC4.

Unter den verwendeten Bedingungen, konnte auf dem Filter mit RNAs aus zwölf humanen Geweben ein Signal in der Niere gezeigt werden. Es wurden zusätzlich Filter (Clontech) mit RNA aus kardiovaskulären Geweben, aus Geweben des Verdauungssystems und aus Geweben des endokrinen System hybridisiert. Auf diesen Northern Blots zeigte sich kein eindeutiges Signal.

#### **Erhöhung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in HEK293-Zellen, die den OTRPC4-Kanal exprimieren**

Um die Funktion des OTRPC4-Kanales zu studieren wurden HEK293-Zellen transient mit Expressionsplasmid, das das OTRPC4-GFP-Fusion Konstrukt enthielt, transfiziert und anschließend die Konzentration der intrazellulären Kalziumkonzentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) mit Hilfe der FURA-2-Methode unter Verwendung eines monochromatischen Einzelzellkalziummessplatzes gemessen (Abbildung 4). Die basale  $[Ca^{2+}]_i$  in OTRPC4-exprimierenden Zellen war im Vergleich zu den Kontrollzellen signifikant erhöht ( $94 \pm 11$  nM; 50 Zellen gemessen in drei unabhängigen Experimenten versus  $41 \pm 3$  nM; 63 Zellen gemessen in drei unabhängigen Experimenten). Um nachzuweisen, daß die Erhöhung der  $[Ca^{2+}]_i$  durch einen Einstrom von extrazellulären Kalzium bedingt ist, wurden sog. Mangan-Quench-Experimente durchgeführt, die ergaben, daß das FURA-2-Signal durch Zugabe von 200 nM Mangan zur extrazellulären Lösung gehemmt wurde. Zusätzlich führte das Weglassen des Kalziums aus der extrazellulären Lösung eine Hemmung des basal erhöhten FURA-2-Signals (siehe Abbildung 4). Beide Ergebnisse zeigen, daß es sich bei OTRPC4 um einen Kalzium-durchlässigen Kationenkanal der Membran handelt.

#### **Messung der OTRPC4 vermittelten Änderung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in HEK293 Zellen, die den OTRPC4 Kanal exprimieren**

Um die Funktion der mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen mit einer weiteren Methode zu testen, wurde die intrazelluläre  $Ca^{2+}$  -Konzentration mit FURA-2 gemessen.

Die Experimente wurden auf einem Luminescence Spectrometer LS 50 B (Perkin Elmer) durchgeführt.

Um das Ausmaß des Kalziumeinstroms in die Zellen zu testen, wurde die maximale intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration mit Ionomycin hervorgerufen. Diese  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  konnte mit EGTA wieder auf den Ausgangswert gebracht werden. Als Nachweis für den Einstrom von extrazellulärem Kalzium über den OTRPC4 wurde die Änderung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration durch Erniedrigung der Osmolarität um 100 mosmol/l (von 320 mosmol/l auf 220 mosmol/l) gezeigt. Durch die hypotone Lösung ergab sich eine Erhöhung der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , die durch EGTA gequencht werden konnte. Nach Gabe von LOE908 (Embaco A, Romanin C, Birke FW, Kukovetz WR, Groschner K : Inhibition of a store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry pathway in human endothelial cells by the isoquinoline derivative LOE 908. *British Journal of Pharmacology*(1996) 119 702-706) (100  $\mu\text{M}$ ) konnte die Erhöhung der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  durch hypotone Lösung zur Hälfte blockiert werden (Abbildung 9). Das Ergebnis zeigt, daß es sich bei dem OTRPC 4 um einen Kationenkanal handelt und LOE908 den OTRPC4 blockiert.

#### **OTRPC4 als Regulator der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten**

Die vorstehend beschriebenen Experimente zeigen, dass OTRPC4 die Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten regulieren kann, die durch Sekretion gebildet werden, wie zum Beispiel Liquor im Gehirn, das Kammerwasser des Auges (und damit auch den Augeninnendruck), der Speichel der Speicheldrüsen etc.. Bei Abweichungen wie zum Beispiel Hypoosmolarität werden dabei mit einem Calciumeinstrom gegenregulierende Prozesse eingeleitet.

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die Verwendung von Modulatoren von OTRPC4 bzw. der biologischen Aktivität von OTRPC4, insbesondere Inhibitoren oder Aktivatoren, zur Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten, insbesondere Liquor des Gehirns, Kammerwasser des Auges, und/oder Speichel. Die vorliegende Erfindung betrifft ferner pharmazeutische Zusammensetzungen, die Modulatoren, Inhibitoren, und/oder Aktivatoren von OTRPC4 enthalten, sowie die Verwendung von Modulatoren, Inhibitoren, und/oder Aktivatoren von OTRPC4 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur prophylaktischen oder therapeutischen



Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten, die durch Sekretion gebildet werden, insbesondere Liquor des Gehirns, Kammerwasser des Auges, und/oder Speichel, bei Erkrankungen oder gesundheitlichen Zuständen, bei denen dies notwendig ist.

**Die OTRPC4-vermittelte Änderung der intrazellulären Kalziumkonzentration ist abhängig von der Osmolarität der extrazellulären Lösung**

Der Einfluß der extrazellulären Osmolarität auf die Kanalaktivität von OTRPC4 wurde untersucht. Nach Verringerung der Osmolarität der extrazellulären Lösung konnte eine länger, transients und reversibler Anstieg der  $[Ca^{2+}]_i$  in den OTRPC4 exprimierenden, aber nicht in den Kontrollzellen beobachtet werden (Abbildung 5). Erhöhung der Osmolarität der extrazellulären Lösung hingegen verminderte  $[Ca^{2+}]_i$  (siehe kleine Abbildung in Abbildung 4). Eine signifikante Änderung der  $[Ca^{2+}]_i$  wurde bereits bei einer Änderung der Osmolarität der extrazellulären Lösung um 30 mosmol/l beobachtet. Die Änderungen der  $[Ca^{2+}]_i$ , ausgelöst durch Veränderung der Osmolarität der extrazellulären Lösung, erfolgte schnell und erreichte ihr Maximum nach ca. 30 Sekunden, variierten allerdings von Zelle zu Zelle (siehe Abbildung 4). Nach Rückkehr zu normoosmolaren Lösung kehrte  $[Ca^{2+}]_i$  schnell wieder zu dem Basalwert zurück. Um zwischen einem Einstrom von Kalzium aus dem extrazellulären Medium und einer Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Kalziumspeicher zu unterscheiden, wurde im extrazellulären Medium Kalzium durch EGTA ersetzt, während die Zellen einem hypotonen Medium ausgesetzt wurden. Unter diesen Bedingungen kehrte das FURA-2 Signal auf den Basalwert zurück (siehe Abbildung 4). Wurden die intrazellulären Speicher durch vorherige Zugabe von Thapsigargin (5  $\mu$ M), einem Hemmer der Kalzium-ATPase des endoplasmatischen Retikulums, (23) entleert, änderte dies nicht an der Amplitude des FURA-2 Signals, ausgelöst durch hypotones Medium.

Diese beiden Ergebnisse belegen, daß in den OTRPC4-exprimierenden Zellen ein Kanal in der Membran exprimiert wird, der für einen osmotisch regulierten Einstrom von Kalzium aus dem extrazellulären Medium verantwortlich ist. Von den beiden Lanthaniden  $Gd^{3+}$  und  $La^{3+}$ , die die meisten kalziumpermeablen Kationenkanäle blockieren (siehe Ref. 11, 14, 24-26), hemmte  $LaCl_3$  bei einer Konzentration von 100  $\mu$ M den durch Hypoosmolarität ausgelösten KalziumEinstrom in OTRPC4-exprimierenden Zellen zu etwa 50%.

Die Mitglieder der STRPC-Subfamilie der TRPC-Kanäle werden durch Signale aktiviert, die bedingt durch die Aktivierung der Phospholipase C- $\beta$  (PLC- $\beta$ ) entstehen (6-15). Die Aktivierung der endogen exprimierten muskarinergen Rezeptoren und damit Aktivierung der PLC- $\beta$  in OTRPC4-exprimierenden Zellen zeigte keinen Effekt auf den Kalziumeinstrom in diesen Zellen.

Die Zugabe von Capsaicin (10  $\mu$ M) und Resiniferatoxin (10  $\mu$ M), wie auch die kurzfristige Erhöhung der Temperatur auf 65°C hatten keinen Effekt auf Zellen, die OTRPC4 exprimierten.

#### 10 **Elektrophysiologische Charakterisierung von OTRPC4**

Parallel zu der Erhöhung der basalen  $[Ca^{2+}]_i$  zeigten Zellen, die OTRPC4 exprimierten, (detektiert durch Fluoreszenz des GFP-Fusionanteils), einen basalen Ionenstrom gemessen im der sog. Ganzzellkonfiguration. Aufgrund des schnellen „run-down“ der Ionenströme wurden die weiteren Experimente mit der sog. „perforated patch“-Methode durchgeführt.

15 Gemessen in Standard-extrazellulärer Lösung zeigte die Strom-Spannungskurve, gemessen durch das Anlegen von Spannungsrampen, eine auswärts rektifizierende Form mit einem Umkehrpotential von ca. 0 mV (Abbildung 6). Wurde aus der extrazellulären Lösung die  $Na^+$ - und  $Ca^{2+}$ -Ionen entfernt, verschwand der Einwärtsstrom und das Umkehrpotential verschob sich in den negativen Bereich. Die durchschnittlichen Ionenströme bei -100 bzw. 20 +100 mV gemessen mit Hilfe von Rampenprotokollen lagen bei  $-12,8 \pm 1,1$  bzw.  $+32,2 \pm 2,7$  pA/pF ( $n=17$ ,  $C_m=9,6 \pm 5,5$  pF). Diese Werte unterschieden sich deutlich von den Werten, die in den Kontrollzellen unter gleichen Bedingungen gemessen wurden; die Kontrollzellen zeigten nur geringe Ionenströme ( $-2,6 \pm 0,7$  und  $+3,9 \pm 0,9$  pA/pF,  $n=5$ ,  $C_m=13,4 \pm 1,5$  pF) mit einer nicht-linearen Strom-Spannungs-Kurve und einem  $E_r$  von  $-16 \pm 2,1$  mV.

25 Der Austausch der extrazellulären Standard-Lösung gegen eine Lösung, die 100 mM NaCl und 100 mM Mannitol enthielt (Osmolarität: 320 mosmol/l) verschob  $E_r$  zu einem negativeren Potential ( $-11,2 \pm 1,6$  mV,  $n=14$ ), wie es von einem durch Kationen getragenen Strom bei der Reduktion der extrazellulären Natriumkonzentration zu erwarten wäre (siehe Abbildung 6). Desweiteren wurden die einwärts- als auch die auswärts gerichtete 30 Stromkomponente reduziert ( $-7,0 \pm 0,8$  und  $22,7 \pm 2,7$  pA/pF bei -100 bzw. +100 mV) (siehe Abbildung 6). Die Applikation einer hypoosmolaren Lösung (215 mosmol/l) führte mit einer Verzögerung von wenigen Sekunden (ca. 18 Sekunden im Mittel) zu einer Erhöhung des

einwärts, wie auch des auswärts gerichteten Stroms (Abbildung 7). Das Maximum dieser Erhöhung wurde im Mittel nach 50 Sekunden erreicht. Die maximalen Stromdichten des einwärts bzw. auswärts gerichteten Stroms betrugen  $-16,9 \pm 1,4$  bzw.  $66,0 \pm 6,1$  pA/pF ( $n=13$ ). Die Strom-Spannungs-Kurve des durch hypoosmolare Lösung aktivierten Stroms hatte die gleiche Form wie die des spontanen Stromes in OTRPC4 exprimierenden Zellen, allerdings war das Umkehrpotential zu stärker positivem Potential verschoben ( $-5,6 \pm 0,7$  mV). Die Entfernung von Natrium- und Kalziumionen aus der extrazellulären Lösung führte zu einem kompletten aber reversiblen Block des Einwärtsstromes und reduzierte die auswärts gerichtete Stromkomponenten (siehe Abbildung 7). Nach Austausch der hypotonen Lösung durch Lösung mit 320 mosmol/l wurden wieder niedrige Stromflüsse gemessen, vergleichbar zu den Ausgangswerten vor Zugabe der hypotonen Lösung. In den Kontrollzellen löste die Zugaben von hypotoner extrazellulärer Lösung einen Stromfluß aus, der die Eigenschaften von Chlorid-Kanälen aufwies, die durch Volumenänderung aktiviert werden (27). Die Aktivierung dieser Stöme konnte durch die Zugabe des Chloridkanal-Blockers NPPB (50  $\mu$ M) vollständig gehemmt werden, während die durch hypotone Lösung ausgelösten Kationenstöme in OTRPC4 exprimierenden Zellen durch diesen Blocker nicht beeinflußt wurden.

Um die Ionenselektivität von OTRPC4 zu bestimmen, wurde die hypotone Lösung, die zur Auslösung der Ströme verwendet wurde, durch hypotone Lösungen ersetzt, die entweder nur Natrium oder nur 20 mM Kalzium als Kationen enthielten. Die gemessenen Umkehrpotentiale betrugen für eine Lösung, die nur 100 mM Natrium enthielt,  $-14,5 \pm 8,8$  mV ( $n=5$ ) und für eine Lösung, die nur 20 mM Kalzium enthielt,  $+5,7 \pm 1,4$  mV ( $n=5$ ). Von diesen Werten konnte ein Verhältnis der Ionenpermeabilität von  $6,3 \pm 0,5$  für  $P_{Ca}/P_{Na}$  und  $0,8 \pm 0,3$  für  $P_{Na}/P_{Ca}$  bestimmt werden.

Um zu testen, ob Zugkräfte an der Membran die durch OTRPC4 getragenen Ströme auslösen kann, wurden positive und negative Drücke auf die Patch-Pipette angelegt, wobei die Ganzzellstöme sowohl in der „cell-attached-“, als auch in der Ganzzellkonfiguration gemessen wurden. Es wurde keine Beeinflussung der durch OTRPC4 getragenen Ströme durch Druckänderungen festgestellt.

Die Ströme, die durch Hypoosmolarität aktiviert werden konnten, waren reversibel mit den Kationen  $Gd^{3+}$  und  $La^{3+}$  zublockieren.  $Gd^{3+}$  in einer Konzentration von 100  $\mu$ M hatte den

stärksten Effekt und reduzierte den Strom um 70 %, wohingegen  $\text{La}^{3+}$  in der selben Konzentration einen schwächeren inhibitorischen Effekt zeigte. Ruthenium Rot, ein Inhibitor des VR1 und des VRL-1 konnte Ströme durch den OTRPC4 vollständig aufheben.

#### **High-throughput Screen zur Identifizierung eines Blockers, Aktivators oder Modulators des OTRPC4-Kationenkanals**

Das oben beschriebene eukaryotische Expressionsplamid mit der OTRPC4-cDNA enthält zusätzlich auch ein Gen, daß den Zellen, die mit diesem Plasmid transfiziert werden, eine Resistenz gegen das Antibiotikum G418 verleiht. HEK293-Zellen wurden durch Lipofektion wie oben beschrieben transfiziert und stabil exprimierende Zellen durch Selektion mit G418 isoliert. Damit der OTRPC4-Kanal während der Selektionsperiode nicht konstitutiv aktiv ist, wurden die HEK293-Zellen in einem Medium kultiviert, dessen Osmolarität auf 320 mosmol/l eingestellt war. Die den OTRPC4-Kanal stabil exprimierenden HEK293-Zellen wurden in 384 well Platten ausgesät und in den Zellen mit Hilfe eines „Fluorescence Imaging Plate Readers“ (FLIPR) die durch Zugabe von hypotonen Medium ausgelöste Erhöhung der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  gemessen.

#### **Konstruktion eines rekombinanten Vektors für einen konditionellen Gene Knock-out:**

Für eine erfolgreiche homologe Rekombination in vivo ist eine identische Sequenz von 6-8 kb Länge notwendig. Das entsprechende Exons muß dabei nicht in der Mitte liegen, sondern es wird allgemein eine asymmetrische Anordnung bevorzugt. Diese erlaubt eine PCR-Analyse der Zellklone der transfizierten ES-Zellen über einen kurzen Bereich von ca 2-3 kb. Dabei bleibt ein langer Arm mit ca 5-6 Kb auf der anderen Seite. Übertragen auf die vorhandene Genstruktur des murinen OTRPC4-Kanals (siehe Abbildung 2) und dem Wunsch die Porenregion zu inaktivieren, boten sich folgende DNA-Konstrukte an. Intron 11, bei Base 1965 gelegen, hat eine Größe  $> 5$  kb, sodaß hier die DNA für den langen Arm gewonnen werden kann. Exon 12 mit ca 420 bp wurde zum Zweck des konditionellen Knock-outs mit flankierenden LoxP-Sites getaggt. Intron 12, bei Base 2286bp liefert noch ausreichende Größe für einen kurzen Arm. Damit fehlt nach dem Knock-out und der Insertion der Neomycin-Kassette das Exon 12 und damit dem Kanalprotein ein Teil der fünften transmembranären Region, die Pore, die sechste transmembranäre Region und ein

Teil des anschließenden zytosolischen Bereiches. Das OTRPC4-Protein, das in den konditionellen Knock-out Mäusen exprimiert wird, wird in vivo funktionell inaktiv sein.

**Auswahl von Sequenzen zur Herstellung von Anti-sense Oligonukleotiden zur Inaktivierung des OTRPC4-Kanals:**

Die in Tabelle 1 aufgeführten Anti-sense Sequenzen wurden nach folgenden Regeln ausgewählt:

- Die Sequenzen weisen möglichst wenig Homologie zu den anderen Kanälen der OTRPC Familie auf.
- Cluster von Guaninen (GGGG) wurden vermieden, da diese zu Sekundärstrukturen und damit zu unspezifischen Interaktionen mit Proteinen führen.
- GC und AT Basenpaare sind in etwa gleich verteilt sein
- eine der Sequenzen überdeckt das ATG, um zusätzlich zur Induktion einer RNase H, die die Target-RNA degradiert, die Hemmung des Translationsstartes als Mechanismus einzuschließen.

Tabelle 1:

Antisense-Oligo 1/Base 6-21 (5'-UTR)  
CGT CTG CAC TGC TCA G  
Antisense-Oligo 2/Base 41-55 (kodierend)  
CCT TCG CTG GAA TCC  
Antisense-Oligo 3/Base 123-137 (kodierend)  
GAGGAGAGAGGAAAAGC  
Antisense-Oligo 4/Base 225-240 (kodierend)  
CAT GCGCAGATTTGGTGC  
Antisense-Oligo 5/Base 303-320 (kodierend)  
CACCGAGGACTCATATAG

Die ausgewählten Antisense Sequenzen können auch als flankierende Sequenzen zur Konstruktion von Ribozymen verwendet werden.

**Erhöhung der intrazellulären Kalzium-Konzentration in Zellen des Plexus choroideus (Schwein)**

Um die Funktion des Kanals in Primärzellen zu untersuchen, wurden Zellen des Plexus choroideus vom Schwein in Kultur genommen und ihre Reaktion auf hypoosmotische Lösung untersucht. Die Experimente wurden mit der FURA-2 Methode durchgeführt, wodurch die Veränderungen der  $[Ca^{2+}]_i$  registriert werden konnten. Die mit FURA-2 beladenen Zellen des Plexus choroideus zeigten ähnlichen  $Ca^{2+}$  abhängige Fluoreszenzänderungen wie die mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen (Abbildung 10). Es ergab sich durch hypoosmolare Lösung ein  $Ca^{2+}$  -Anstieg in den Zellen, der durch  $Ca^{2+}$  Entzug des extrazellulären Mediums unter das Ausgangsniveau gesenkt werden konnte. Durch  $Ca^{2+}$  Zugabe konnte der erhöhte Ausgangsspiegel wieder erreicht werden. Nach der Zugabe von 20  $\mu$ M Serotonin zeigte sich ein Peak in der  $[Ca^{2+}]_i$ , der langsam erst auf die Ausgangskonzentration zurückging. Damit wurde die Vitalität der Zellen und die Sensibilität der Methode überprüft.

Aus diesen Experimenten läßt sich schließen, daß ein Kanal wie der OTRPC4 in den Zellen des Plexus choroideus vorkommen kann und dort für die osmotische Regulation zuständig ist.

#### **Entwicklung eines Antikörpers zum Nachweis des OTRPC4 Proteins**

Für den Nachweis des OTRPC4 Proteins wurde ein Antikörper hergestellt. Die Proteinsequenz gegen die der Antikörper gerichtet ist entspricht dem distalen C-Terminus des murinen OTRPC4 Proteins. Die Peptidsequenz ist folgende:  
CDGHQQGYAPKWRTDDAPL

Zur Herstellung des Antikörpers wurden Kaninchen mit 1 mg KLH-Konjugat des oben dargestellten Peptides immunisiert.

Mit dem AK wurde ein Westernblot mit drei verschiedenen Fraktionen aus HEK293 Zellen, die mit dem OTRPC4 transfiziert worden waren, hybridisiert. Die Kontrollzellen waren native HEK293 Zellen. Die Fraktionen aus dem Cytosol und das Cholatextrakt zeigte kein Signal für das OTRPC4 Fagment, die Zellmembranfraktion zeigte in den transfizierten HEK293 Zellen ein eindeutiges Signal für das Vorkommen des OTRPC4 in der Zellmembran (Abbildung 8).

In einem Immunfluoreszenzassay wurden mit murinem OTRPC4 transient transfizierte 293 HEK-Zellen auf das Vorkommen des OTRPC4 Proteins in der intakten Zellen untersucht. Der Primärantikörper war der oben beschriebene Peptidantikörper. Als Sekundär-AK wurde

ein ant-rabbit-AK mit einem FITC-Konjugat verwendet (Abbildung). Die FITC - Fluoreszenz ist deutlich im Bereich der Zellwand zu erkennen, was mit den Daten aus dem Western blot übereinstimmt.

Das bedeutet, daß OTRPC4 in den mit dem OTRPC4 transfizierten HEK293 Zellen in der Zellmembran als natives Protein integriert ist und der Antikörper das OTRPC4 Protein erkennt und im Western blot oder in der lebenden Zelle über Immunfluoreszenz nachweisen kann.

## Literaturstellen

1. Lang, F. et al. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.* 78, 247-306 (1998).
- 5 2. Colbert, H. A. et al. OSM-9, a novel protein with structural similarity to channels, is required for olfaction, mechanosensation and olfactory adaptation in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* 17, 8259-8269 (1997).
3. Montell, C. & Rubin, G. M. Molecular characterization of the *Drosophila* trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. *Neuron* 2, 1313-  
10 1323 (1989).
4. Harteneck, C. et al. From worm to man: three subfamilies of TRP channels. *Trends Neurosci.* 23, 159-166 (2000).
5. Phillips, A. M. et al. Identification of a *Drosophila* gene encoding a calmodulin-binding protein with homology to the trp phototransduction gene. *Neuron* 8, 631-642 (1992).
- 15 6. Wes, P. D. et al. TRPC1, a human homolog of a *Drosophila* store-operated channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 9652-9656 (1995).
7. Zhu, X. et al. Molecular cloning of a widely expressed human homologue for the *Drosophila* trp gene. *FEBS Lett.* 373, 193-198 (1995).
8. Wissenbach, U. et al. Structure and mRNA expression of a bovine trp homologue  
20 related to mammalian trp2. *FEBS Lett.* 429, 61-66 (1998).
9. Zhu, X. et al. trp, a novel mammalian gene family essential for agonist-activated capacitative  $\text{Ca}^{2+}$  entry. *Cell* 85, 661-671 (1996).
10. Philipp, S. et al. A mammalian capacitative calcium entry channel homologous to *Drosophila* TRP and TRPL. *EMBO J.* 15, 6166-6171 (1996).
- 25 11. Okada, T. et al. Molecular cloning and functional characterization of a novel receptor-activated TRP  $\text{Ca}^{2+}$  channel from mouse brain. *J. Biol. Chem.* 273, 10279-10287 (1998).
12. Philipp, S. et al. A novel capacitative calcium entry channel expressed in excitable cells. *EMBO J.* 17, 4274-4282 (1998).
- 30 13. Boulay, G. et al. Cloning and expression of a novel mammalian homologue of *Drosophila* transient receptor potential (TRP) involved in calcium entry secondary to activation of receptors coupled by the  $G_q$  class of G protein. *J. Biol. Chem.* 272, 29672-29680 (1997).



14. Okada, T. et al. Molecular and functional characterization of a novel mouse transient receptor potential protein homologue TRP7. *J. Biol. Chem.* 274, 27359-27370 (1999).
15. Hofmann, T. et al. Direct activation of human TRPC6 and TRPC3 channels by diacylglycerol. *Nature* 397, 259-263 (1999).
16. Caterina, M. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816-824 (1997).
17. Tominaga, M. et al. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 21, 531-543 (1998).
18. Caterina, M. et al. Capsaicin receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature* 398, 436-441 (1999).
19. Kanzaki, M. et al. Translocation of a calcium-permeable cation channel induced by insulin-like growth factor-I. *Nat. Cell Biol.* 1, 165-170 (1999).
20. Hoenderop, J. G. J. et al. Molecular identification of the apical  $\text{Ca}^{2+}$  channel in 1,25-dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$ -responsive epithelia. *J. Biol. Chem.* 274, 8375-8378 (1999).
21. Peng, J. B. et al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J. Biol. Chem.* 274, 22739-22746 (1999).
22. Hunter, J.J. et al. Chromosomal localization and genomic characterization of the mouse melastatin gene (*Mln1*). *Genomics* 54, 116-123 (1998).
23. Nagami, K. et al. Molecular cloning of a novel putative  $\text{Ca}^{2+}$  channel protein (TRPC7) highly expressed in brain. *Genomics* 54, 124-131 (1998).
22. Thastrup, O. et al. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 2466-2470 (1990).
23. Foskett, J. K. in *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation* (ed. Strange, K.) 259-277 (CRC Press, Boca Raton, 1994).
24. Yang, X. C. & Sachs, F. Block of stretch-activated ion channels in *Xenopus* oocytes by gadolinium and calcium ions. *Science* 243, 1068-1071 (1989).
25. Urbach, V. et al. Mechanosensitive calcium entry and mobilization in renal A6 cells. *J. Memb. Biol.* 168, 29-37 (1999).
26. Nilius, B. et al. Volume-activated  $\text{Cl}^-$  channels. *Gen. Pharmacol.* 27, 1131-1140 (1996).

## Legenden zu den Abbildungen

**Abbildung 1:** Aminosäuresequenz der vorhergesagten Porenbildenden Struktur von OTRPC4 und die Gewebeverteilung der Expression von OTRPC4.

- 5 (a) Dargestellt ist die Aminosäuresequenz der vorhergesagten fünften und sechsten transmembranären Domäne und der benachbarten cytosolischen Domäne von OTRPC4. Die transmembranäre Region 5 und 6 und die vermutliche Porenbildende cytoplasmatische Domäne sind als solche bezeichnet, und die konservierten Aminosäuren sind hinterlegt. (b) Autoradiogramm eines Northern-Blots unterschiedlicher Maus Geweben unter Verwendung  
10 der EST-Sequenzen der Maus-cDNA codierend für OTRPC4 als Probe. Ein 3,3 kb Fragment wird in der RNA von Herz, Leber, Niere und Testis nachgewiesen, ein zusätzliches 2,2 kb Fragment kann in der RNA von Leber und Niere nachgewiesen werden.

- Abbildung 2:** Sequenzen der cDNA codierend für OTRPC4 der Maus und Organisation  
15 des genomischen Klonen von OTRPC4. Der Translationsstart, der Stopcodons, sowie die Übergänge zwischen Exons und Introns und die Länge der Introns sind bezeichnet. Unter der DNA-Sequenz ist die Aminosäuresequenz dargestellt, die vorhergesagten transmembranären Regionen und die Ankyrin-Bindungstelle sind bezeichnet.

- 20 **Abbildung 3:** In-situ-Hybridisierung von Maus-Niere und -Hirn zum Nachweis der Expression von OTRPC4.

- Darstellt sind ein Sagittalschnitt (a) und ein Horizontalschnitt (f) einer gesamten Maus Niere, zwei Vergrößerungen des Sagittalschnittes der Niere (b, c), ein Sagittalschnitt (e),  
25 ein Koronarschnitt (f), ein Horizontalschnitt (g) eines gesamten Maus-Hirns und eine Vergrößerung des Sagittalschnittes eines Maus-Hirns (h). Die entsprechenden Schnitte wurden nach Fixierung des Gewebes mit einem Mikrotom angefertigt und anschließend mit einer radioaktiv markierten RNA-Sonde des kodierenden Bereiches von Maus-OTRPC4 hybridisiert. Gezeigt ist die Expression von OTRPC4 im distalen Konvolut der Niere (b, c) und im Plexus choroideus der Hirn-Ventrikel (h).

- 30 **Abbildung 4:** Zunahme der intrazellulären Kalziumkonzentration in HEK293 Zellen transfiziert mit einem Plasmid, das die cDNA von OTRPC4 exprimiert. Die intrazelluläre Kalziumkonzentration wurde mit Hilfe der FURA-2-Technik in Zellen gemessen, die OTRPC4 exprimieren und zu Zellen verglichen, die diesen Kanal nicht exprimieren. Die  
35 Zellen wurden anfänglich in isotoner Lösung, die 100 mM Mannitol und 1 mM  $\text{CaCl}_2$  enthielt, kultiviert. Der obere horizontale Balken gibt den Wechsel der extrazellulären Lösung, mit der die Zellen umspült wurden, zu einer 200 mM Lösung an. Der Wechsel der Osmolarität wurde dadurch erreicht, daß das Mannitol weggelassen wurde. In dem Zeitraum, der durch den unteren horizontalen Balken angegeben wird, wurde das Kalzium  
40 in der extrazellulären Lösung durch EGTA ersetzt. Die gezeigten Spuren stellen die Mittelwerte aus 17 Zellen (für die OTRPC4-exprimierenden Zellen) und 21 Zellen (für die Kontrollzellen) dar im gleichen Experiment dar. Die kleine Abbildung zeigt die entsprechenden Meßspuren für einzelne OTRPC4-exprimierenden Zellen desselben Experimentes.

- 45 **Abbildung 5:** Osmolaritätsabhängige Änderung der intrazellulären Kalziumkonzentration in HEK293-Zellen, die OTRPC4 transient exprimieren. Gezeigt ist der maximalen

Fluoreszenzquotienten des Kalzium-beladenen und -unbeladen FURA-2 Farbstoffes in Abhängigkeit zur Osmolarität der extrazellulären Lösung.

**Abbildung 6:** Abnahme des Ionenflusses in OTRPC4-exprimierenden Zellen in einer hyperosmolaren extrazellulären Lösung. Der Ionenfluß wurde durch Spannungsrampen von -100 bis +100 mM in einer Standard extrazellulären Lösung (Osmolarität 305 mosmol/l; 1) und nach Zugabe einer Mannitol enthaltenden Lösung mit einer Osmolarität von 320 mosmol/l (2) aufgenommen. Die kleine Abbildung zeigt den Zeitverlauf des Effektes ausgelöst durch die Erhöhung der Osmolarität der extrazellulären Lösung.

**Abbildung 7:** Zunahme des Ionenflusses getragen durch Kationen ausgelöst durch hypotone extrazelluläre Lösung in Zellen, die OTRPC4 exprimieren. (A) Der Ganzzell-Ionenstrom einer OTRPC4 exprimierenden Zelle wurde gemessen bei -100 und +100 mV. Zu dem Zeitpunkt, die am horizontalen Balken angegeben sind, wurde die extrazelluläre Standard-Lösung ausgetauscht gegen eine Lösung, die 100 mM NaCl und 100 mM Mannitol (Osmolarität 320 mosmol/l) enthielt, dann gegen eine Lösung ohne Mannitol (215 mosmol/l) und dann wiederum durch eine hypoosmolare Lösung, in der Natrium und Kalzium durch NMDG ersetzt war. Zum Schluß wurde die Zelle wieder mit 320 milliosmolare Lösung umspült. (B) Aufgetragen ist der Ionenstrom, der durch eine einzelne Spannungsrampe in einer OTRPC4 exprimierenden Zelle zu den Zeitpunkten, die in (A) mit Zahlen bezeichnet sind, ausgelöst wurde.

**Abbildung 8:** Western Blot von OTRPC4 in subzellulären Fraktionen. Mit dem Antikörper wurde ein Westernblot mit drei verschiedenen Fraktionen aus HEK293 Zellen, die mit dem OTRPC4 transfiziert worden waren, hybridisiert. Die Kontrollzellen waren native HEK293 Zellen. Die Fraktionen aus dem Cytosol und das Cholatextrakt zeigte kein Signal für das OTRPC4 Fragment, die Zellmembranfraktion zeigte in den transfizierten HEK293 Zellen ein eindeutiges Signal für das Vorkommen des OTRPC4 in der Zellmembran.

**Abbildung 9:** Zunahme der intrazellulären Kalziumkonzentration in Zellen, die OTRPC4 exprimieren. Die erste Substanzzugabe erfolgte nach 1 min, die zweite nach 2 min. Die Osmolarität des Messpuffers betrug 320 mosmol/l.

— Leerwert  
— Ionomycin (2  $\mu$ M) EGTA  
— hypotone Lösung (220 mosmol/l) EGTA  
— LOE908(100  $\mu$ M) hypotone Lösung (220 mosmol/l)

**Abbildung 10:** Zunahme des Ionenflusses getragen durch Kationen ausgelöst durch hypotone extrazelluläre Lösung in Zellen des Plexus choroideus. Zu dem Zeitpunkt, die am horizontalen Balken angegeben sind, wurde die extrazelluläre Standard-Lösung ausgetauscht gegen eine Lösung, die eine Osmolarität von 300 mosmol/l hatte, dann gegen eine Lösung mit 230 mosmol/l und dann wiederum durch die Ausgangslösung (Osmolarität 300 mosmol/l). Zum Schluß wurden die Zellen mit 20  $\mu$ M Serotonin angeregt, um die Vitalität der Zellen und die Sensibilität der Methode zu überprüfen.

Aufgetragen ist der die Ratio spezifische zu unspezifischer Fluoreszenz bei einer FURA-2 Messung gegen die Zeit.

## Patentansprüche

1. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 oder für ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine  
 5 Untereinheit kodiert, oder Varianten der besagten Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes oder eine Nukleinsäure, die an besagte Nukleinsäure hybridisieren kann.
2. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie RNS ist.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie DNS ist.
- 10 4. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie 5' oder 3' oder 5' und 3' untranslatierte Regionen enthält.
5. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß sie für ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
6. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß sie für  
 15 eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
7. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie für eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 kodiert.
8. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie für Varianten der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes kodiert.
- 20 9. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 8 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.
10. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 ein Säugerkationenkanal ist.
11. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß besagter  
 25 nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 murin ist.
12. Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß besagter nicht-selektiver Kationenkanal OTRPC4 human ist.
13. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz  
 CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAAATGGCGGATTCCAGCGAA  
 30 GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG  
 CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG  
 GGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC

AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG  
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG  
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC  
GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG  
5 CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC  
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC  
GGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT  
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG  
CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG  
10 GCAACATGCGGGAGTTCATTA ACTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC  
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTTC  
TCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCAAGCCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC  
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCCTGTCGCTGGCTG  
CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA  
15 AGGCGGACATGCGGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG  
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC  
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC  
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGGCAA  
GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC  
20 GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC  
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA  
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG  
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC  
TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT  
25 ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACACGGTGGAC  
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC  
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC  
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCTGGTGATCG  
TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT  
30 TTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC  
TGACGGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC  
GATTCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC

CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT  
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC  
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA  
GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA  
5 CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC  
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCA~~C~~CCATC  
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG  
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG  
CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA  
10 TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA  
CCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG  
GAACTGAACAAGAACTCGAAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT  
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA  
CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT  
15 CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTCAAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC  
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG  
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA  
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA  
GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG  
20 TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG  
CACTGCCCGGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA  
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA  
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA  
TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

25 oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes umfaßt.

14. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

30 CTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACAATGGCGGATTCCAGCGAA  
GGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCTCCCCGGGGATGAGAGTGG  
CACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGG

GGAGGATGGCTCCCTTTTCGCCCTCACCGGCTGATGCCAGTCGCCCTGCTGGCCC  
AGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCCAGGGCGCCTTCCGCAAGG  
GGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACCCTATATGAGTCCTCGGTGG  
TGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTGTTTGACTACGGCACCTATC  
5 GTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAAGAAGATCATAGAGAAGCAG  
CCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGCCCCCATCCTCAAAGTCTTC  
AACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGGGCTCCACTGCTGACCTGGAC  
GGGCTGCTCCCATTCTTGCTGACCCACAAGAAACGCCTAACTGATGAGGAGTTT  
CGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCCTTGCTGAACCTGAG  
10 CAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTGGACATCGCGGAGCGCACCG  
GCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGTGACATCTACTATCGAGGTC  
AGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGCAAACACTACGTGGAACCTC  
TCGTGGCCCAAGGAGCTGATGTCCACGCCAGGCCCGTGGGCGCTTCTTCCAGC  
CCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCCTGTCGCTGGCTG  
15 CCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCTGACGGAGAACCCCCACAAGA  
AGGCGGACATGCGGGCGCCAGGACTCGCGAGGCAACACAGTGCTGCATGCGCTG  
GTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACACCAAGTTTGTTACCAAGATGTAC  
GACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGGCC  
GTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCATGATGGCTGCCAAGACGGGCAA  
20 GATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGGAGGTGACGGATGAGGACACAC  
GGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCAGTGTATTCCTCGC  
TTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGGGAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGA  
TCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCGCCACGAGATGCTGGCTGTGGAG  
CCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGCGCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTC  
25 TACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACTCTCACCGCCT  
ACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGTACCCTTACCGCACCAACGGTGGAC  
TACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGCTCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTC  
TTCACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTC  
TTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTTCATCTACTCTGTCCTGGTGATCG  
30 TCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGAGGCCTACCTGGCCGTGATGGTCT  
TTGCCCTGGTCTGGGCTGGATGAATGCCCTTTACTTCACCCGTGGGCTGAAGC  
TGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAAGATTCTCTTCAAGGACCTTTTCC

GATTCCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATCGGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTC  
CCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTGTGCAATGAGGACCAGACCAACT  
GCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGACAGCGAGACCTTCAGCACCTTCC  
TCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATGGGCGACCTGGAGATGCTGAGCA  
5 GCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTGCTGGTGACCTACATCATCCTCA  
CCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCCTCATGGGCGAGACAGTGGGCC  
AGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGCTGCAGTGGGCCACCACCATC  
CTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCTGGG  
GAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGGCACTCCTGACCGCAGGTGGTG  
10 CTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCA  
TCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACCAGTATTATGGCTTCTCGCATA  
CCGTGGGCCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCTCGGTGGTACCCCGCGTGGTG  
GAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTGGTGGTGCCTCTGGACAGCAT  
GGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGGTTACCCCGCAAGTGGAGGA  
15 CTGAGGACGCCCCGCTCTAGGGACTGCAGCCCAGCCCCAGCTTCTCTGCCCACT  
CATTTCTAGTCCAGCCGCATTTTCAGCAGTGCCTTCTGGGGTGTCCCCCACACC  
CTGCTTTGGCCCCAGAGGCGAGGGACCAGTGGAGGTGCCAGGGAGGCCCCAGG  
ACCCTGTGGTCCCCTGGCTCTGCCTCCCCACCCTGGGGTGGGGGCTCCCGGCCA  
CCTGTCTTGCTCCTATGGAGTCACATAAGCCAACGCCAGAGCCCCTCCACCTCA  
20 GGCCCCAGCCCCTGCCTCTCCATTATTTATTTGCTCTGCTCTCAGGAAGCGACG  
TGACCCCTGCCCCAGCTGGAACCTGGCAGAGGCCTTAGGACCCCGTTCCAAGTG  
CACTGCCCCGCCAAGCCCCAGCCTCAGCCTGCGCCTGAGCTGCATGCGCCACCA  
TTTTTGGCAGCGTGGCAGCTTTGCAAGGGGCTGGGGCCCTCGGCGTGGGGCCA  
TGCCTTCTGTGTGTTCTGTAGTGTCTGGGATTTGCCGGTGCTCAATAAATGTTTA  
25 TTCATTGACGGTGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

hat.

15. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT  
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT  
30 GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTGCCCCTCACCGGCTGATGC  
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC  
AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC



CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG  
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA  
GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGC  
CCCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG  
5 GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC  
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC  
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG  
GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAACCTCGCCCTTCCGT  
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC  
10 AAACACTACGTGGAACCTTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCA<sub>c</sub>GCCCAGGCC  
CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA  
GCTGCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT  
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC  
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC  
15 CAAGTTTGT<sub>T</sub>ACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCGCCTCTT  
CCCCGACAGCAACCTGGAGGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCCTCAT  
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG  
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC  
TATGGGCCAGTGTATTCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG  
20 GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG  
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC  
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA  
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGGCACACCGCCGT  
ACCCTTACCGCACACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC  
25 TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA  
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCAATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT  
CATCTACTCTGTCTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA  
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCCCT  
TACTTCACCCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA  
30 GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC  
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG  
TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCTCGTGCCGTGAC

AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG  
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG  
CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCC  
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG  
5 CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCTTG  
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCACCGTGGGCAAGAGCTCGGACGG  
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG  
GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC  
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT  
10 CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAAGTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG  
GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG  
TTACCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
15 besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes umfaßt.

16. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCGGATTCCAGCGAAGGCCCCCGCGCGGGGCCCCGGGGAGGTGGCTGAGCT  
CCCCGGGGATGAGAGTGGCACCCCAGGTGGGGAGGCTTTTCCTCTCTCCTCCCT  
20 GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGATGGCTCCCTTTCGCCCTCACCGGCTGATGC  
CAGTCGCCCTGCTGGCCCAGGCGATGGGCGACCAAATCTGCGCATGAAGTTCC  
AGGGCGCCTTCCGCAAGGGGGTGCCCAACCCCATCGATCTGCTGGAGTCCACC  
CTATATGAGTCCTCGGTGGTGCTGGGCCCAAGAAAGCACCCATGGACTCACTG  
TTTGACTACGGCACCTATCGTCACCACTCCAGTGACAACAAGAGGTGGAGGAA  
25 GAAGATCATAGAGAAGCAGCCGCAGAGCCCCAAAGCCCCTGCCCCTCAGCCGC  
CCCCCATCCTCAAAGTCTTCAACCGGCCTATCCTCTTTGACATCGTGTCCCGGG  
GCTCCACTGCTGACCTGGACGGGCTGCTCCCATTTCTTGCTGACCCACAAGAAAC  
GCCTAACTGATGAGGAGTTTCGAGAGCCATCTACGGGGAAGACCTGCCTGCCC  
AAGGCCTTGCTGAACCTGAGCAATGGCCGCAACGACACCATCCCTGTGCTGCTG  
30 GACATCGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGGGAGTTCATTAAGTTCGCCCTTCCGT  
GACATCTACTATCGAGGTCAGACAGCCCTGCACATCGCCATTGAGCGTCGCTGC  
AAACACTACGTGGAAGTCTCGTGGCCCAGGGAGCTGATGTCCAAGCCCAGGCC

CGTGGGCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGGGGCTACTTCTACTTTGGGGA  
GCTGCCCCCTGTCGCTGGCTGCCTGCACCAACCAGCCCCACATTGTCAACTACCT  
GACGGAGAACCCCCACAAGAAGGCGGACATGCGGCGCCAGGACTCGCGAGGC  
AACACAGTGCTGCATGCGCTGGTGGCCATTGCTGACAACACCCGTGAGAACAC  
5 CAAGTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTGCTCAAGTGTGCCCCGCCTCTT  
CCCCGACAGCAACCTGGAGGCCGTGCTCAACAACGACGGCCTCTCGCCCCTCAT  
GATGGCTGCCAAGACGGGCAAGATTGGGATCTTTCAGCACATCATCCGGCGGG  
AGGTGACGGATGAGGACACACGGCACCTGTCCCGCAAGTTCAAGGACTGGGCC  
TATGGGCCAGTGTATTCTCGCTTTATGACCTCTCCTCCCTGGACACGTGTGGG  
10 GAAGAGGCCTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATTGAGAACCG  
CCACGAGATGCTGGCTGTGGAGCCCATCAATGAACTGCTGCGGGACAAGTGGC  
GCAAGTTCGGGGCCGTCTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTACCTGTGTGCCA  
TGGTCATCTTCACTCTCACCGCCTACTACCAGCCGCTGGAGGGCACACCGCCGT  
ACCCTTACCGCACCAACGGTGGACTACCTGCGGCTGGCTGGCGAGGTCATTACGC  
15 TCTTCACTGGGGTCCTGTTCTTCTTACCAACATCAAAGACTTGTTTCATGAAGA  
AATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCATTGATGGCTCCTTCCAGCTGCTCTACTT  
CATCTACTCTGTCTTGGTGATCGTCTCAGCAGCCCTCTACCTGGCAGGGATCGA  
GGCCTACCTGGCCGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCTGGGCTGGATGAATGCCCT  
TTACTTCACCCGTGGGCTGAAGCTGACGGGGACCTATAGCATCATGATCCAGAA  
20 GATTCTCTTCAAGGACCTTTTCCGATTCTGCTCGTCTACTTGCTCTTCATGATC  
GGCTACGCTTCAGCCCTGGTCTCCCTCCTGAACCCGTGTGCCAACATGAAGGTG  
TGCAATGAGGACCAGACCAACTGCACAGTGCCCACTTACCCCTCGTGCCGTGAC  
AGCGAGACCTTCAGCACCTTCCTCCTGGACCTGTTTAAGCTGACCATCGGCATG  
GGCGACCTGGAGATGCTGAGCAGCACCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCATCCTG  
25 CTGGTGACCTACATCATCCTCACCTTTGTGCTGCTCCTCAACATGCTCATTGCCC  
TCATGGGCGAGACAGTGGGCCAGGTCTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAG  
CTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATTGAGCGCTCCTTCCCCGTATTCCTG  
AGGAAGGCCTTCCGCTCTGGGGAGATGGTCAACGTGGGCAAGAGCTCGGACGG  
CACTCCTGACCGCAGGTGGTGGCTTCAGGGTGGATGAGGTGAACTGGTCTCACTG  
30 GAACCAGAACTTGGGCATCATCAACGAGGACCCGGGCAAGAATGAGACCTACC  
AGTATTATGGCTTCTCGCATACCGTGGGCCGCTCCGCAGGGATCGCTGGTCCT  
CGGTGGTACCCCGCGTGGTGGAACTGAACAAGAACTCGAACCCGGACGAGGTG

GTGGTGCCTCTGGACAGCATGGGGAACCCCCGCTGCGATGGCCACCAGCAGGG  
TTACCCCCGCAAGTGGAGGACTGAGGACGCCCCGCTCTAG

hat.

17. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

5 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG  
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT  
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC  
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT  
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA  
10 GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT  
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCC  
AACCCCATTTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG  
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC  
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA  
15 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC  
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC  
TCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC  
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG  
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT  
20 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC  
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG  
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG  
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC  
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC  
25 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG  
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTCACCAAGATGTACGAC  
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT  
CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC  
GGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA  
30 TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA  
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT  
GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA

TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA  
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCTCACC GCCTACTA  
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT  
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC  
5 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT  
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT  
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC  
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC  
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT  
10 CCTGCTTGTTGACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC  
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC  
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT  
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG  
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT  
15 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT  
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG  
ACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA  
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC  
AGGGTGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA  
20 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT  
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC  
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG  
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA  
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG  
25 GCCTTCGCTCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT  
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC  
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG  
GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA  
AGGCCCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC  
30 TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA  
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC  
TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC

TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AAA  
AA

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten  
5 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes  
umfaßt, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G  
oder T und W ein A oder T sein kann.

18. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

10 GGCCACGCGTCGACTAGTACGGGGGGGGGGGGGGGGGGTGGCRGSRGGAKCAG  
GACTCGGCCGGAGGGATCAGGAAGCGGCGGCGCTGCGCCCGCGTCCTGAGGCT  
GAGAAGTACAAACAGATCTGGGTCCAGTATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCC  
GTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCCCCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCT  
GGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCTGGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAA  
15 GGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGCTAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGAT  
GGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCAGGGCGCTTTCGCAAGGGGGTTCCC  
AACCCCATTTGACCTGTTGGAGTCCACCCGGTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGG  
CCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGTTCGACTACGGCACTTACCGTCACCAC  
CCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAAAGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGA  
20 GCCCCAAAGCTCCTGCACCCCAGCCACCCCCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGC  
CCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCTCCACTGCGGACCTAGATGGACTGC  
TCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCCTGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGC  
CGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCAAGGCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGG  
CGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGACATTGCGGAGCGCACCGGCAACAT  
25 GCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGACATCTACTACCGAGGCCAGACATC  
CCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAAGCACTACGTGGAGCTGCTGGTGG  
CCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCAGGCCCGCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAG  
GATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGCTGCCCTTGTCCCTGGCAGCCTGC  
ACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGACAGAGAACCCTCACAAGAAAGC  
30 TGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAACACGGTGCTGCACGCGCTGGTGG  
CCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAAGTTTGTACCAAGATGTACGAC  
CTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCCGACAGCAACCTGGAGACAGTT

CTCAACAATGATGGCCTTTTCGCCTCTCATGATGGCTGCCAAGACAGGCAAGATC  
GGGGTCTTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGTGACAGATGAGGACACCCGGCA  
TCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATGGGCCTGTGTATTCTTCTCTCTA  
CGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGGAGGTGTCCGTGCTGGAGATCCT  
5 GGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCATGAGATGCTGGCTGTAGAGCCCA  
TTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAAGTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACA  
TCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGTCATCTTCACCCCTACCGCCTACTA  
TCAGCCACTGGAGGGCACGCCACCCTACCCTTACCGGACCACAGTGGACTACCT  
GAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTTCACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTAC  
10 CAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATGCCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGT  
CGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATCTACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCT  
GCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCCTACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCC  
CTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTACTTCACGCGCGGGTTGAAGCTGAC  
GGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGATCCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTT  
15 CCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGCTATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTC  
CTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCAC  
GGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAGCGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCT  
GGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGGAGACCTGGAGATGCTGAGCAGCG  
CCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCTGGTCACCTACATCATCCTCACCTT  
20 CGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTCATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGT  
GTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTTGCAGTGGGCCACCACCATCCTGG  
ACATCGAGCGTTCCCTTCCCTGTGTTCCCTGAGGAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGA  
TGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCACTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTC  
AGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGGAACCAGAACTTGGGCATCATTA  
25 CGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCAGTACTATGGCTTCTCCCACACCGT  
GGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTCGGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGC  
TGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGGTGGTACCCCTGGATAACCTAGGG  
AACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGCTACGCTCCCAAGTGGAGGACGGA  
CGATGCCCCACTGTAGGGGCGGTGCCAGAGCTCGCACAGATAGTCCAGGCTTG  
30 GCCTTCGCTCCCACCTACATTTAGGCATTTGTCCGGTGTCTTCCCACACCCGCAT  
GGGACCTTGGAGGTGAGGGCCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCC  
TCTGGTCCCCGCCAAGACTTTTGCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGCG

GGGCTCCTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAGCCAGCACA  
AGGCCCTCTCCTCGAAAGGCTCAGGCCCATCCCTCTTGTGTATTATTTATTGC  
TCTCCTCAGGAAAATGGGGTGGCAGGAGTCCACCCGCGGCTGGAACCTGGCCA  
GGGCTGAAGCTCATGCAGGGACGCTGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACC  
5 TGCTGCAGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGGCCGC  
TGGTGCTCAATAAATGTTTATTCTCGGTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA  
AA  
AA

hat, worin R ein A oder G, M ein A oder C, S ein C oder G, Y ein C oder T, K ein G oder  
10 T und W ein A oder T sein kann.

19. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC  
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCCTCCCCCTCTCTTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGC  
15 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA  
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATTGACCTGTTGGAGTCCACCCG  
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCCTTGTT  
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA  
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC  
20 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT  
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTTGACCCACAAGAAGCGCC  
TGACTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG  
GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA  
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA  
25 CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA  
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC  
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC  
TGCCCTTGTCCTTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA  
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC  
30 ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA  
GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC  
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG



GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT  
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG  
GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG  
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT  
5 GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA  
GTTTGGGGCTGTGTCCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT  
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGCAGCCACCCTACCC  
TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT  
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG  
10 CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTGCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC  
TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC  
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC  
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT  
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC  
15 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT  
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG  
CGAGACCTTCAGCGCCTTCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG  
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT  
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC  
20 ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT  
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAG  
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA  
CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG  
AACCAGAACTTGGGCATCATTAAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA  
25 GTACTATGGCTTCTCCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC  
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGGAGCTGAACAAGAACTCAAGCGCAGATGAAGTGG  
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC  
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

oder eine Teilsequenz hiervon, eine Nukleinsäure, die an besagte Sequenz unter stringenten  
30 Bedingungen hybridisieren kann, eine allele Variante oder eine funktionelle Variante von  
besagter Sequenz oder eine Variante der Nukleinsäure aufgrund des degenerativen Kodes  
umfaßt.

20. Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie die Sequenz

ATGGCAGATCCTGGTGATGGTCCCCGTGCAGCGCCTGGGGAGGTGGCTGAGCC  
CCCTGGAGATGAGAGTGGTACCTCTGGTGGGGAGGCCTTCCCCCTCTCTTCCCT  
GGCCAATCTGTTTGAGGGGGAGGAAGGCTCCTCTTCTCTTTCCCCGGTGGATGC  
5 TAGCCGCCCTGCTGGCCCTGGCGATGGACGTCCAAACCTGCGTATGAAGTTCCA  
GGGCGCTTTCCGCAAGGGGGTTCCCAACCCCATGACCTGTTGGAGTCCACCCG  
GTACGAGTCCTCAGTAGTGCCTGGGCCCAAGAAAGCGCCCATGGATTCTTGT  
CGACTACGGCACTTACCGTCACCACCCAGTGACAACAAGAGATGGAGGAGAA  
AGGTCGTGGAGAAGCAGCCACAGAGCCCCAAAGCTCCTGCACCCAGCCACCC  
10 CCCATCCTCAAAGTCTTCAATCGGCCATCCTCTTTGACATTGTGTCCCGGGGCT  
CCACTGCGGACCTAGATGGACTGCTCTCCTTCTTGTGACCCACAAGAAGCGCC  
TGA CTGATGAGGAGTTCCGGGAGCCGTCCACGGGGAAGACCTGCCTGCCCAAG  
GCGCTGCTGAACCTAAGCAACGGGCGCAACGACACCATCCCGGTGTTGCTGGA  
CATTGCGGAGCGCACCGGCAACATGCGTGAATTCATCAACTCGCCCTTCAGAGA  
15 CATCTACTACCGAGGCCAGACATCCCTGCACATTGCCATCGAACGGCGCTGCAA  
GCACTACGTGGAGCTGCTGGTGGCCAGGGAGCCGACGTGCACGCCCAGGCCC  
GCGGCCGCTTCTTCCAGCCCAAGGATGAGGGAGGCTACTTCTACTTTGGGGAGC  
TGCCCTTGTCCTTGGCAGCCTGCACCAACCAGCCGCACATCGTCAACTACCTGA  
CAGAGAACCCTCACAAGAAAGCTGACATGAGGCGACAGGACTCGAGGGGGAAC  
20 ACGGTGCTGCACGCGCTGGTGGCCATCGCCGACAACACCCGAGAGAACACCAA  
GTTTGTACCAAGATGTACGACCTGCTGCTTCTCAAGTGTTACGCCTCTTCCCC  
GACAGCAACCTGGAGACAGTTCTCAACAATGATGGCCTTTCGCCTCTCATGATG  
GCTGCCAAGACAGGCAAGATCGGGGTCTTTCAGCACATCATCCGACGTGAGGT  
GACAGATGAGGACACCCGGCATCTGTCTCGCAAGTTCAAGGACTGGGCCTATG  
25 GGCCTGTGTATTCTTCTCTCTACGACCTCTCCTCCCTGGACACATGCGGGGAGG  
AGGTGTCCGTGCTGGAGATCCTGGTGTACAACAGCAAGATCGAGAACCGCCAT  
GAGATGCTGGCTGTAGAGCCCATTAACGAACTGTTGAGAGACAAGTGGCGTAA  
GTTTGGGGCTGTGTCTTCTACATCAACGTGGTCTCCTATCTGTGTGCCATGGT  
CATCTTCACCCTCACCGCCTACTATCAGCCACTGGAGGGGCACGCCACCCTACCC  
30 TTACCGGACCACAGTGGACTACCTGAGGCTGGCTGGCGAGGTCATCACGCTCTT  
CACAGGAGTCCTGTTCTTCTTTACCAGTATCAAAGACTTGTTACGAAGAAATG  
CCCTGGAGTGAATTCTCTCTTCGTCGATGGCTCCTTCCAGTTACTCTACTTCATC

TACTCTGTGCTGGTGGTTGTCTCTGCGGCGCTCTACCTGGCTGGGATCGAGGCC  
TACCTGGCTGTGATGGTCTTTGCCCTGGTCCTGGGCTGGATGAATGCGCTGTAC  
TTCACGCGCGGGTTGAAGCTGACGGGGACCTACAGCATCATGATTCAGAAGAT  
CCTCTTCAAAGACCTCTTCCGCTTCCTGCTTGTGTACCTGCTCTTCATGATCGGC  
5 TATGCCTCAGCCCTGGTCACCCTCCTGAATCCGTGCACCAACATGAAGGTCTGT  
GACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGTATCCTGCGTGCCGCGACAG  
CGAGACCTTCAGCGCCTTCCTCCTGGACCTCTTCAAGCTCACCATCGGCATGGG  
AGACCTGGAGATGCTGAGCAGCGCCAAGTACCCCGTGGTCTTCATCCTCCTGCT  
GGTCACCTACATCATCCTCACCTTCGTGCTCCTGTTGAACATGCTTATCGCCCTC  
10 ATGGGTGAGACCGTGGGCCAGGTGTCCAAGGAGAGCAAGCACATCTGGAAGTT  
GCAGTGGGCCACCACCATCCTGGACATCGAGCGTTCCTTCCCTGTGTTCTGAG  
GAAGGCCTTCCGCTCCGGAGAGATGGTGACTGTGGGCAAGAGCTCAGATGGCA  
CTCCGGACCGCAGGTGGTGCTTCAGGGTGGACGAGGTGAACTGGTCTCACTGG  
AACCAGAACTTGGGCATCATTAACGAGGACCCTGGCAAGAGTGAAATCTACCA  
15 GTACTATGGCTTCTCCCACACCGTGGGGCGCCTTCGTAGGGATCGTTGGTCCTC  
GGTGGTGCCCCGCGTAGTGAGCTGAACAAGAAGTCAAGCGCAGATGAAGTGG  
TGGTACCCCTGGATAACCTAGGGAACCCCAACTGTGACGGCCACCAGCAGGGC  
TACGCTCCCAAGTGGAGGACGGACGATGCCCCACTGTAG

hat.

- 20 21. Rekombinanter Vektor, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 enthält.
22. Rekombinanter Vektor nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Expressionsvektor ist.
23. Wirt, dadurch gekennzeichnet, daß er einen Vektor nach Anspruch 21 oder 22 enthält.
- 25 24. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er eine eukaryontische Wirtszelle ist.
25. Wirt nach Anspruch 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Insektenzelle ist.
26. Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß er eine Sf9-, HEK293- oder HeLa- Zelle ist.
- 30 27. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Bakteriophage ist.
28. Wirt nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß er eine prokaryontische Wirtszelle ist.

29. Polypeptid, dadurch gekennzeichnet, daß es durch eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 kodiert wird, oder ein Fragment, eine funktionelle Variante, eine allele Variante, eine Untereinheit, eine Variante aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes, ein chemisches Derivat hiervon, ein Fusionsprotein mit besagtem Polypeptid oder eine Glykosilierungs-Variante hiervon.
30. Polypeptid nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Fragment des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
31. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 oder 30, dadurch gekennzeichnet, daß es eine funktionelle Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
32. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 31, dadurch gekennzeichnet, daß es eine allele Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
33. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 32, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Untereinheit des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
34. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes ist.
35. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 34, dadurch gekennzeichnet, daß es ein chemisches Derivat des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
36. Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 35, dadurch gekennzeichnet, daß es ein Fusionsprotein aus dem nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 und einem weiteren Protein ist.
37. Polypeptid nach einem der Ansprüche 25 bis 36, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Glykosilierungs-Variante des nicht-selektiven Kationenkanals OTRPC4 ist.
38. Verfahren zur Herstellung von Polypeptiden nach einem der Ansprüche 29 bis 37, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 kultiviert wird und besagtes Polypeptid isoliert wird.
39. Antikörperprotein, dadurch gekennzeichnet, daß es spezifisch für ein Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 37 ist.
40. Verfahren zur Herstellung von einem Antikörperprotein nach Anspruch 39, dadurch gekennzeichnet, daß es die folgenden Schritte umfaßt: Ein Wirt ausgewählt aus einer eukaryontischen oder prokaryontischen Zelle, welcher einen oder mehrere Vektoren mit einer oder mehreren Nukleinsäuren spezifisch für das Antikörperprotein enthält, wird

unter Bedingungen, unter denen besagtes Antikörperprotein durch besagte Wirtszelle exprimiert wird, kultiviert, und besagtes Antikörperprotein wird isoliert.

41. Verwendung eines Polypeptides nach einem der Ansprüche 29 bis 37 zum Auffinden von Antagonisten, Agonisten oder Modulatoren besagter Polypeptide.

5 42. Verwendung eines Wirtes nach einem der Ansprüche nach einem der Ansprüche 23 bis 28 zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4 Kanälen.

43. Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivatoren oder Modulatoren von OTRPC4, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 mit einer Testsubstanz inkubiert wird.

10 44. Verfahren nach Anspruch 43, dadurch gekennzeichnet, daß ein Membranstrom gemessen wird, besagter Membranstrom mit einem Membranstrom verglichen wird, der bei besagtem Wirt nach Inkubation mit einer bekannten Kontrollsubstanz oder in Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird.

15 45. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 oder 44, dadurch gekennzeichnet, daß besagter Blocker an einen Kanal gebunden ist, besagter Wirt mit einer Testsubstanz inkubiert wird und die Verdrängung des an den Kanal gebundenen Blockers oder Aktivators durch die Testsubstanz gemessen wird.

20 46. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 bis 45, dadurch gekennzeichnet, daß ein Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 mit einer Testsubstanz inkubiert wird, die intrazelluläre Menge eines divalenten Kationes bestimmt wird und besagte Menge des divalenten Kationes mit der Menge besagten divalenten Kationes verglichen wird, die bei der Inkubation besagten Wirtes mit einer bekannten Kontrolle oder in der Abwesenheit der Testsubstanz gemessen wird.

25 47. Verfahren nach einem der Ansprüche 43 bis 46, dadurch gekennzeichnet, daß besagtes Verfahren ein Hochdurchsatzmusterungstest (HTS) oder ein Ultrahochdurchsatzmusterungstest (UHTS) ist.

48. Aktivator von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

49. Blocker von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

50. Modulator von OTRPC4, auffindbar mit einem Verfahren nach Anspruch 43 bis 47.

30 51. Anti-Sinn-Nukleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie an einen Teil einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann.

52. Anti-Sinn-Nukleinsäure nach Anspruch 51, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Ribozym ist.
53. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
54. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Anti-Sinn-Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 51 bis 52 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
55. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Polypeptid nach einem der Ansprüche 29 bis 37 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
56. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Vektor nach einem der Ansprüche 21 bis 22 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
57. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Wirt nach einem der Ansprüche 23 bis 28 sowie pharmazeutisch akzeptable Träger- oder Hilfsstoffe enthält.
58. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.
59. Verwendung einer Anti-Sinn-Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 51 bis 52 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.
60. Verwendung eines Vektors nach einem der Ansprüche 21 bis 22 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.

61. Verwendung eines Wirts nach einem der Ansprüche 23 bis 28 zur Herstellung eines Medikamentes für die Behandlung von einer Krankheit ausgewählt aus der Gruppe von Diabetes, Hyperlipidämie, Hyperproteinämie, Hypertonus, Schlaganfall, Niereninsuffizienz, Schock sowie weiteren pathophysiologischen Zuständen, die durch Hyper- und Hypoosmolarität charakterisiert sind.

62. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich zu seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 (Transgen) enthält.

63. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 inaktiviert (Gen-Knock-out) ist.

64. Nicht menschlicher Säuger, dadurch gekennzeichnet, daß in seinem Genom eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 modifiziert (Gen-Knock-in) ist.

65. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

a) embryonale Stammzellen besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 enthält sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht.

b) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt a) isoliert werden und diese in die Keimbahn ein weibliches Tier besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden

c) die Nachkommen besagten weiblichen Tieres aus Schritt b) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt a) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.

66. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

d) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz inaktiviert ist sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA des besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht

e) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt d) isoliert werden und diese in die Keimbahn eines weiblichen Tieres des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden.

f) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt e) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt d) kodierte Polypeptid gering oder überhaupt nicht exprimieren, analysiert.

67. Verfahren zur Herstellung eines nicht menschlichen Säugers, dadurch gekennzeichnet, daß

g) embryonale Stammzellen des besagten nicht menschlichen Säugetiers mit einem Vektor transfiziert werden, der eine Nukleinsäure enthält, die an eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 20 unter stringenten Bedingungen hybridisieren kann und durch Insertion einer zusätzlichen Nukleinsäuresequenz modifiziert ist, sowie eine Rekombination zwischen der genomischen DNA besagten nicht menschlichen Säugetieres und der im Vektor enthaltenen Nukleinsäure ermöglicht

h) stabil transfizierte Stammzellen aus Schritt g) isoliert werden und diese in die Keimbahn ein weibliches Tier des besagten nicht menschlichen Säugetieres überführt werden

i) die Nachkommen des besagten weiblichen Tieres aus Schritt h) mit einem männlichen Tier derselben Art werden auf Tiere, die das durch die Nukleinsäure aus Schritt g) kodierte Polypeptid exprimieren, analysiert.



68. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend einen Modulator, Aktivator, oder Inhibitor von OTRPC4.

69. Verwendung eines Modulators, Aktivators oder Inhibitors zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Regulierung der Osmolarität körpereigener Flüssigkeiten.

70. Verwendung nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit Liquor, Kammerwasser, und/oder Speichel ist.

71. Polypeptid nach Anspruch 29 mit der Aminosäuresequenz

MADSSEGPRAGPGEVAELPGDESGTPGGEAFPLSSLANLFEGEDGSLSPSPADA  
SRPAGPGDGRPNLRMKFQGAFRKGVPNPIDLLESTLYESSVVPGPKKAPMDSLF  
DYGTyrHHSSDNKRWRKKIIEKQPQSPKAPAPQPPPIKVFNRPIFDIVSRGST  
ADLDGLLPFLTHKKRLTDEEFREPSTGKTCLPKALLNLSNGRNDTIPVLLDIAE  
RTGNMREFINSFPRDIYYRGQTALHIAIERRCKHYVELLVAQGADVHAQARGRF  
FQPKDEGGYFYFGELPLSLAACTNQPHIVNYLTENPHKKADMRRQDSRGNTVL  
HALVAIADNTRENTKVFVKMYDLLLLKCARLFPDSNLEAVLNNDGLSPLMMA  
AKTGKIGIFQHIREVTDEDTRHLSRKFKDWAYGPVYSSLYDLSSLDTCGEEAS  
VLEILVYNSKIENRHEMLAVEPINELLRDKWRKFGAVSFYINVVSYLCA MVIFT  
LTAYYQPLEGTPPYRPTTVDYLR LAGEVITLFTGVLFFFTNIKDLFMKKCPGV  
NSLFIDGSFQLLYFIYSVLVIVSAALYLAGIEAYLAVMVFALVLGWMNALYFTR  
GLKLTGTYSIMIQKILFKDLFRFLLVYLLFMIGYASALVSLN NPCANMKVCNED  
QTNCTVPTYPSCRDSETFSTFLDLFKLTIGMGDLEMLSSTKYPVVFILLVTYII  
LTFVLLLNMLIALMGETVGQVSKESKHIWKLQWATTILDIER SFPVFLRKAFRS  
GEMVTVGKSSDGTDDRWC FRVDEVNWSHWNQNLGIINEDPGKNETYQYYG  
FSHTVGRLRRDRWSSVVP RVVELNKNSNPDEVVVPLDSMGNPRCDGHQQGY P  
RKWRTE DAPL

OTRPC4 J M J O K I L F K D L F R F L L V L E M I G Y A S A L V T L - - - L N P C T N M K V C D E D O S N C T V P T Y P A  
TM5

OTRPC4 C R D S E M - - B S A F L M D E F K L T I G M G D L E M L S S A K Y P V M F I L L E L V I A Y T L L F E V L L L N M I L L A L  
vermutete Porenregion TM6

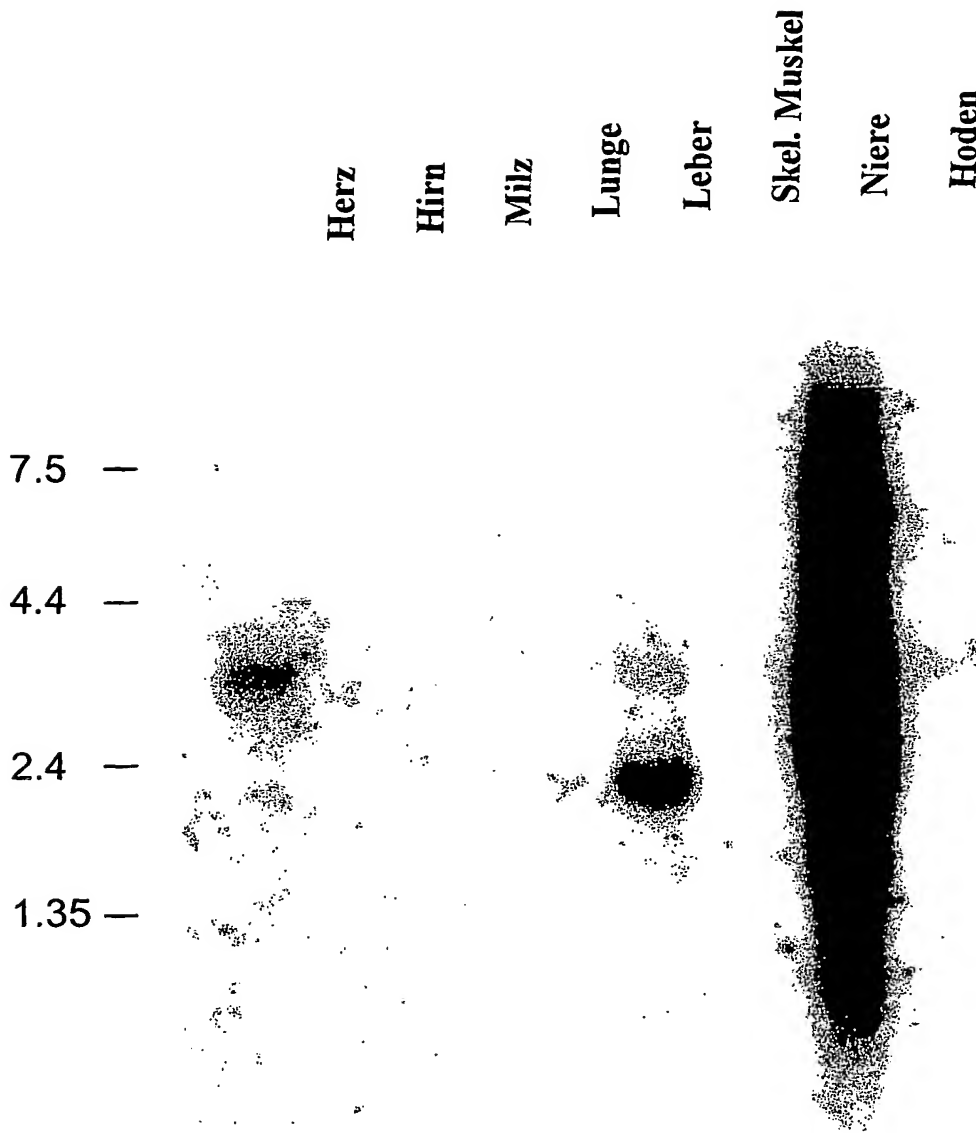
OTRPC4 M G E T V G O V S K E S K H M W K C O W A T T L L D I E I R S F P V F L P K A F R S G E M V T V G K S S D G T P D R

1/21

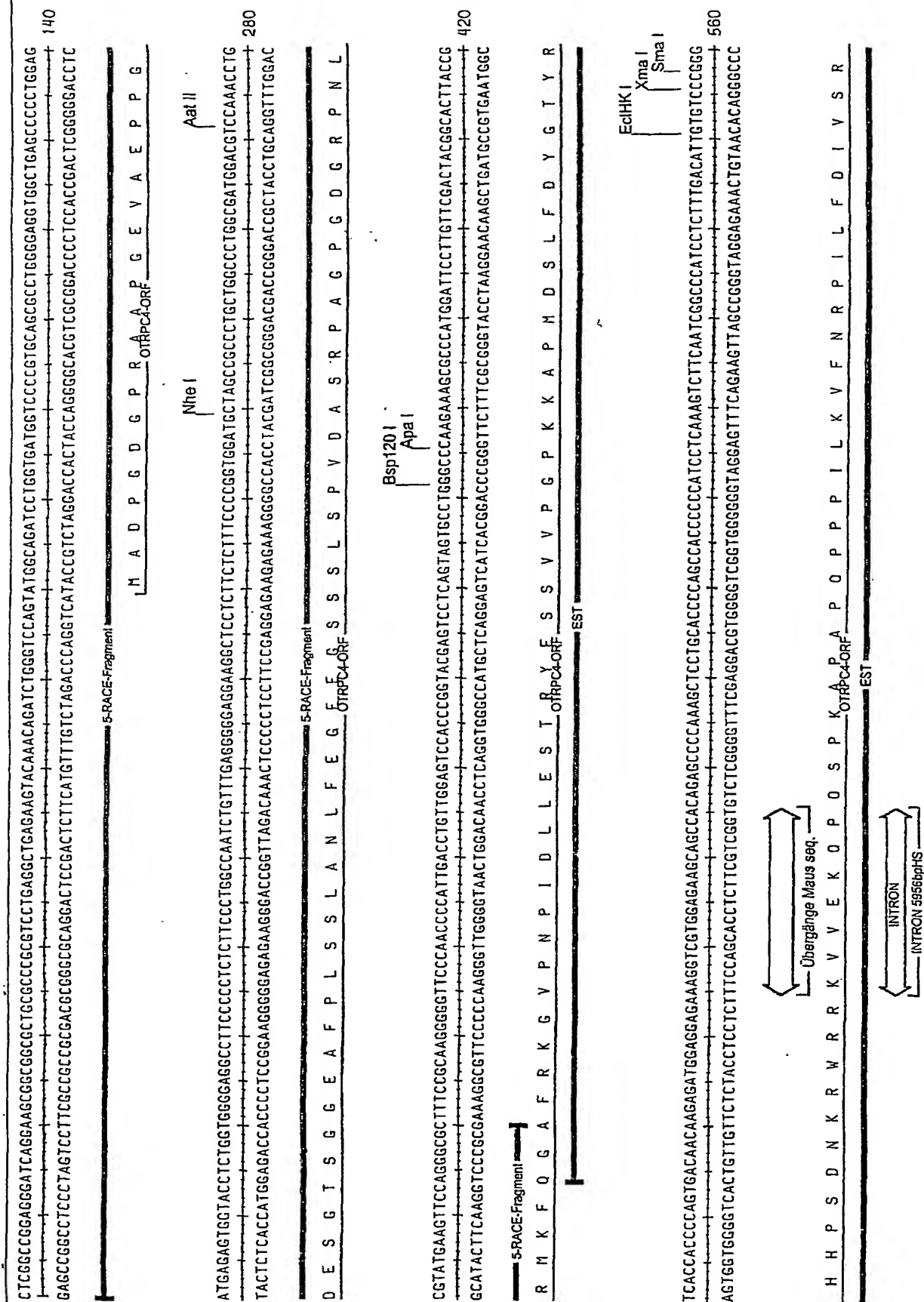
**Fig. 1a**

**ERSATZBLATT (REGEL 26)**

2/21

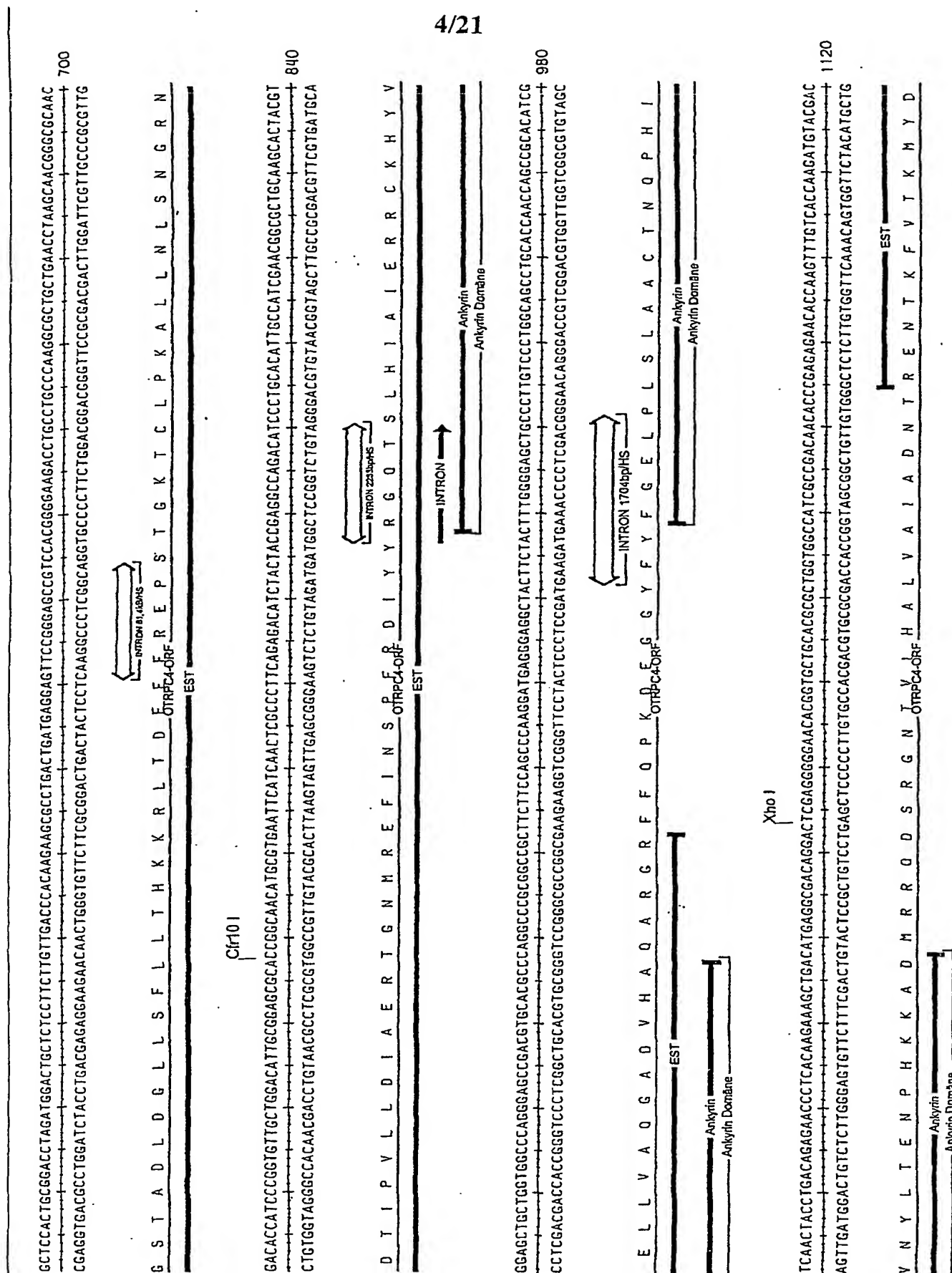


**3/21**



**Fig. 2a (I)**  
**ERSATZBLATT (REGEL 26)**

NSDOCID: <WO\_\_\_016B698A2\_I\_>



5/21

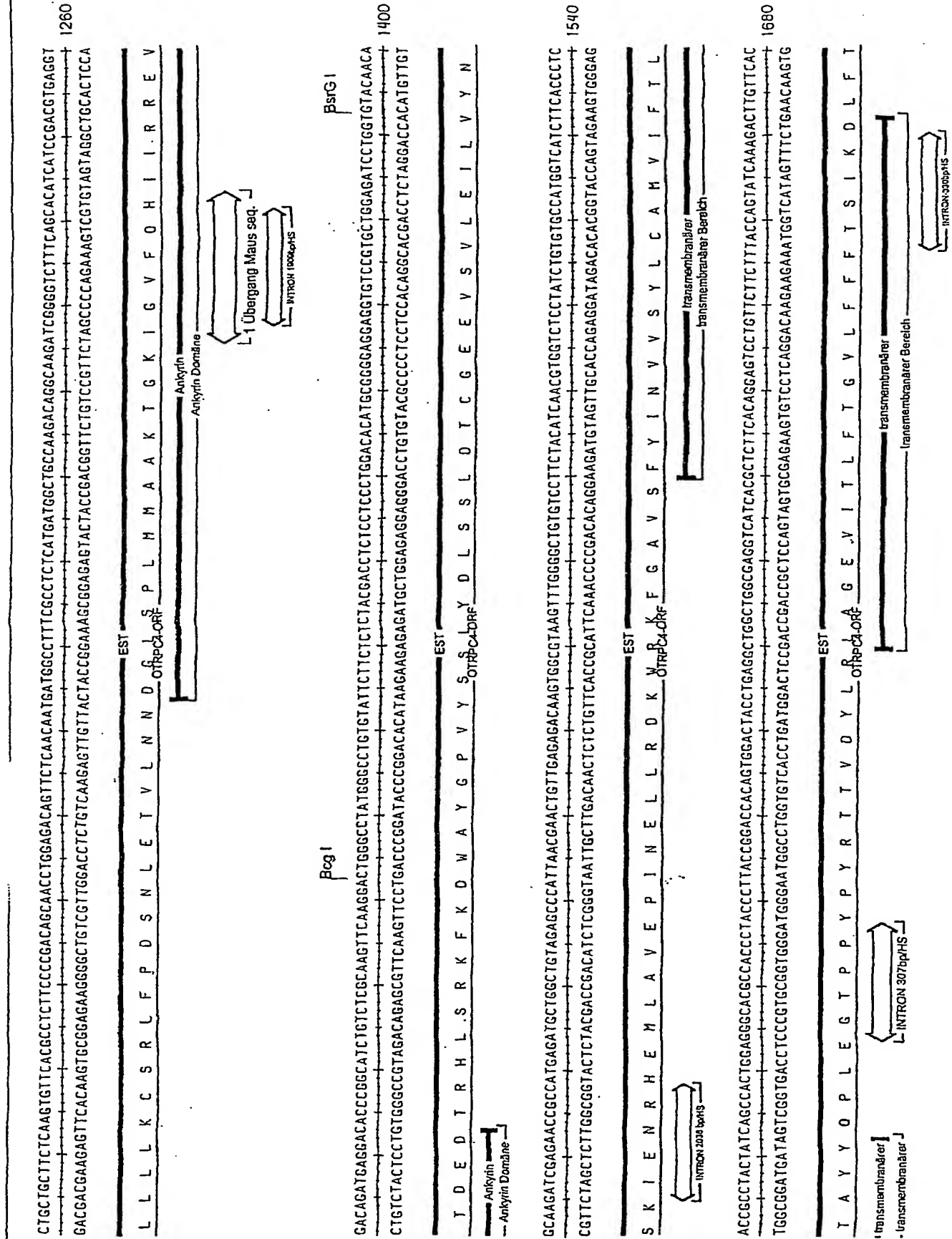


Fig. 2a (III)

TCCTCTTACGGGACCTCAGCTTAAGAGAGAGAGCAGCTACCGAGGAGGTCATGAGATGAGATGAGACACGACCACACAGAGAGACGCCGCGAGATGAGACCGACCTAGCTCCGGATGAGACCGACACTACCGAGAAAC


K K C C P G V N S L F V D G S F O L L Y F I Y <sup>EST</sup> O T R S C L V F I V V V S A A L Y L A G I E A Y L A V M V F

transmembranärer Bereich  
transmembranärer Bereich

NITROGEN TUBES

**Bsam!**

1960

A L V L G W H N A L Y F T R G L K L I G T Y S M I O K I L F K D L F R F L L V Y L L F H I G  
EST ————— STRECKE ————  
  
transmembranärer Bereich      transmembranärer Bereich

TATATGCTCGAGCCCTGGTCACTCTCTGAACTCGGTGACCAACATGAAAGTCTGTGACGAGGACCAGAGCAACTGCACGGTGCCACGATCTCTCGGTCCGCGACAGCGAGACCTTCACGCGCTTCCTCTCGAGCCTCTT  
 2100

Y A S A L V T L L N P C T N H K V C D E D O S N C T V P T Y P A C R D S E T F S A F L L D L F

EST

Transmembranärer

Transmembranärer Bereich

in Proteinen = Membranproteine

K L T I G H G D L E M L S S A K Y P V V F I O T R P C A D R E  
 ————— EST —————  
 G T T C G A S T G T A G C C G Y A C C C T C T G G A C C T C T A C G A C T C G T C G G G T T C A T G G G G C A C C A G A G T A G G A G G A C G A C C A G T G G A T G T A G T A G G A G T G G A A G C A C G A G G A C A A C T T G T A C G A A T A G C G G S A G T A C C C A C T C T  
 C A A G C T A C C A T C G G C A T G G G A G A C T G G A G A T G C T G A G A G C G C C A A G T A C C C G T G G T C T T C A T C C T C T G C T G C T A C C T C A C C T C T G T G A A C A T G C T T A T G C C C C T C A T G G G T G A G A 2240

**Fig. 2a (IV)**  
**ERSATZBLATT (REGEL 26)**

7/21

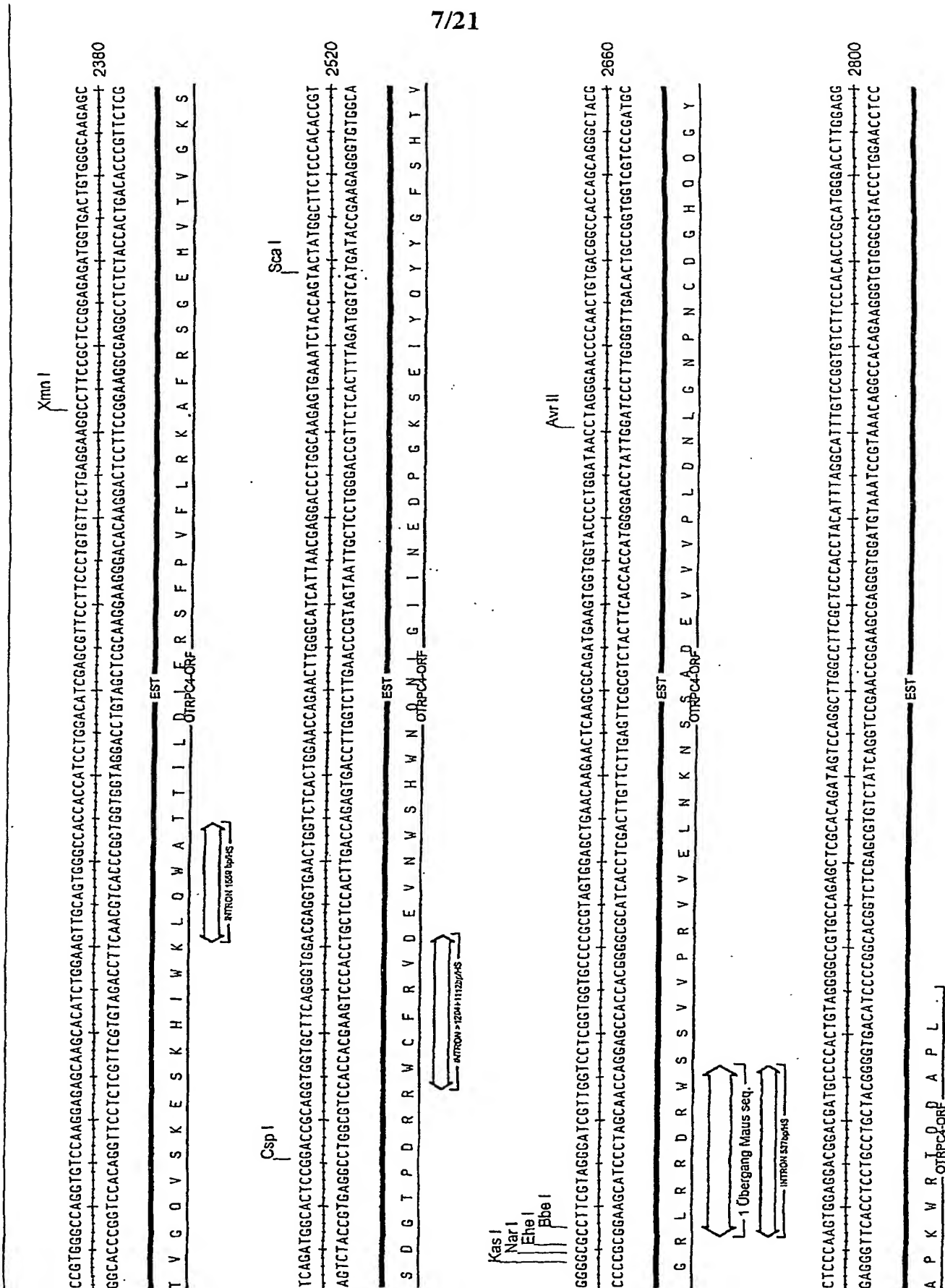


Fig. 2a (V)  
ERSATZBLATT (REGEL 26)



**Drd !**

TCAGGGGCTCTGTGGCGACTCTGTGGAGGCCCCAGGACCCTCTGGTCCCGCCCAAGACTTTTGCTTCAGCTCTACTCCCCACATGGGGGGGGGGGCTCTTGGCTACCTGTCTCGCTCGCTCCCATGGAGTCACCTAAG  
ACTCCCGGAGACACACCGCTGAGACACTTCGGGGGTCTCTGGGAGACACAGGGGGCGGTCTTGAAACACGGAAGTCAGATGAGGGGTGTACCCCTCCGCCCCAGGAGCCGATGGACAGACGACAGCGAGGTACCTTCAGTGGGATTC

**EST**

3080

EST -

TGCAGCTCCGACCTGCCACAGATCTGACCTGCTGACGCCCTGGCTAGTGTGGGTCTTCTGTACTTTGAAGAGATCGGGCCGCTGGTGTCTCAATAAATGTTATTCTCGTGGAAAAAATAAAAAA  
ACGTGGAAGGCTGGACGGGTGCTAGACTGGACGACCGCTGGGGACCGATCACACCCGAGAGACATGAACCTCTCTAGCCCCGGCGACCCACGAGTATTACAAATGAAGGCCACCTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTT

EST

[illegible]

EST

**ERSATZBLATT (REGEL 26)**

9/21

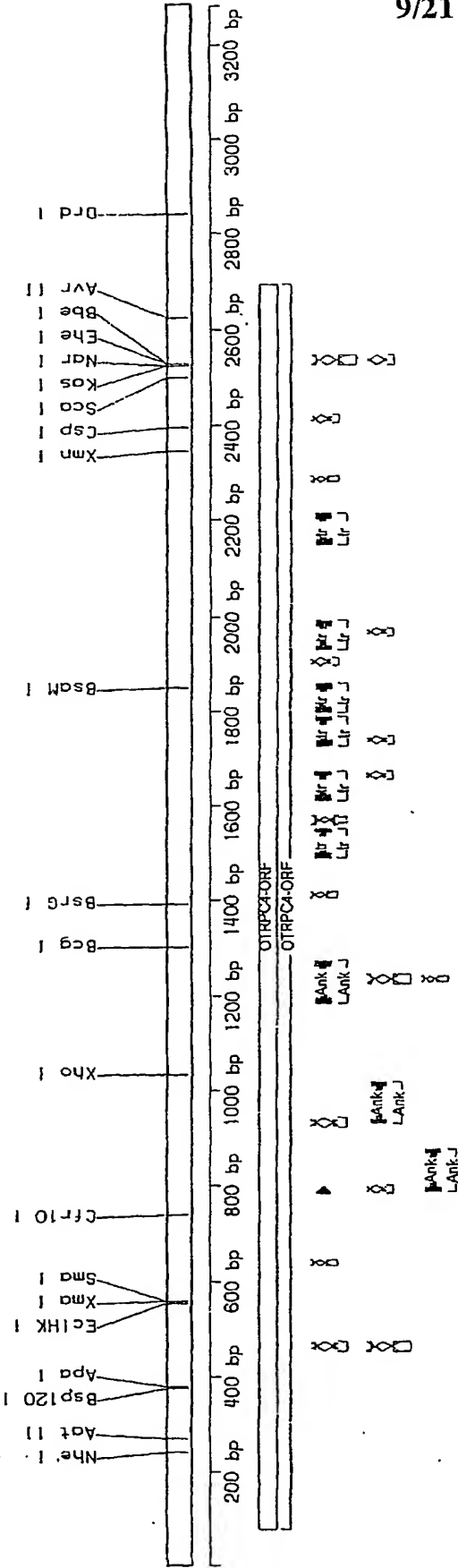


Fig. 2b

ERSATZBLATT (REGEL 26)

11/21

Maus Niere Sagitalanschnitt

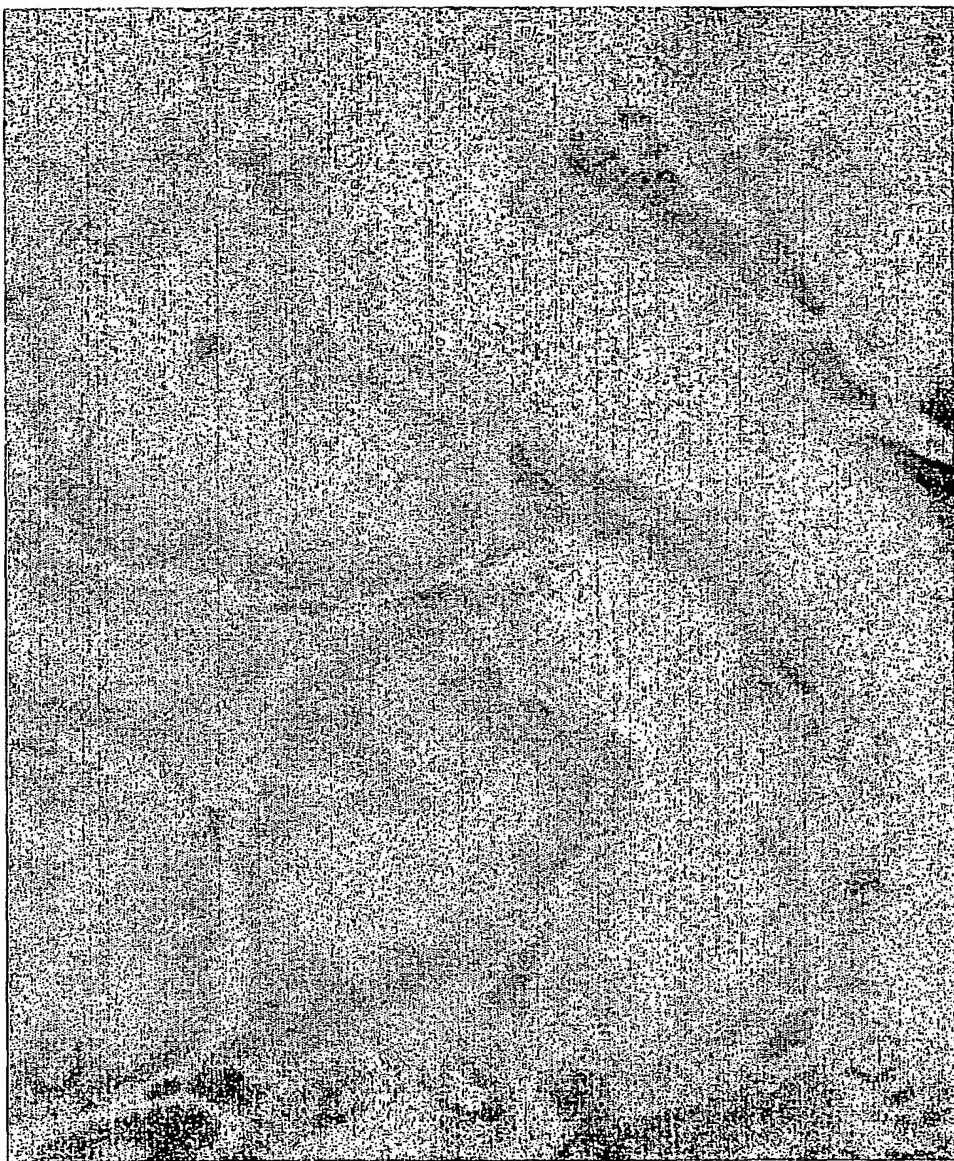


Fig. 3b

Maus Niere Sagitalanschnitt

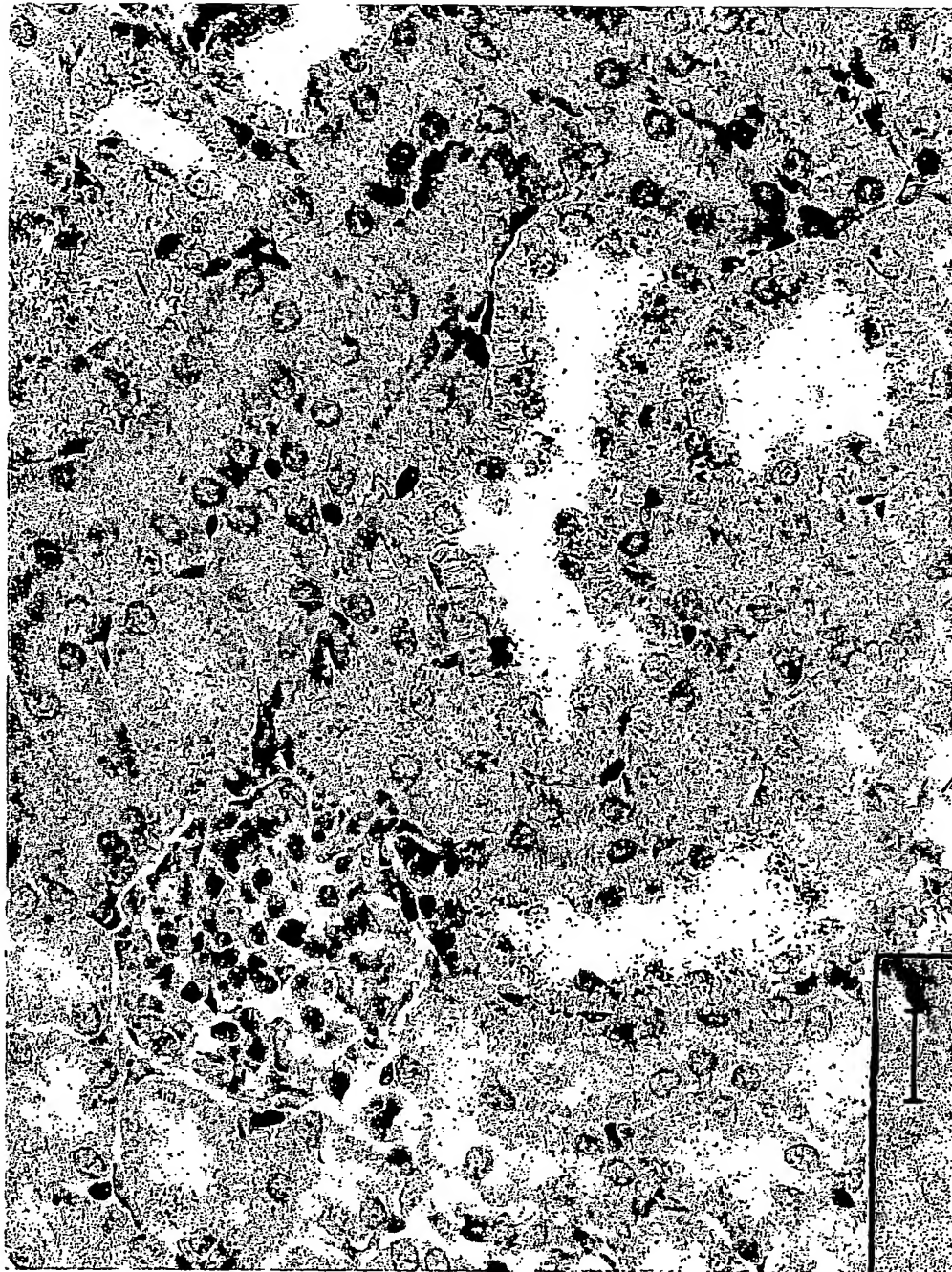


Fig. 3c

ERSATZBLATT (REGEL 26)

10/21

Maus Niere Sagitalanschnitt



Fig. 3a

Maus Niere Horizontalanschnitt

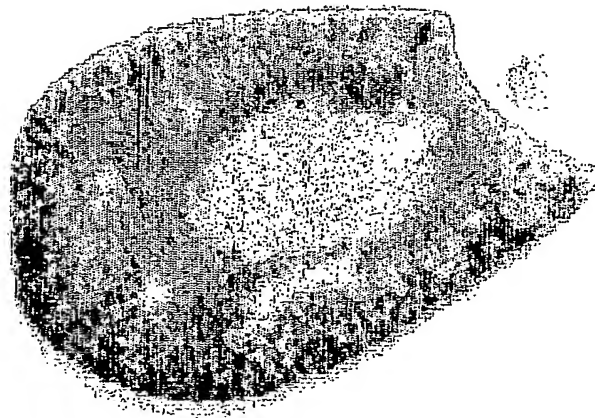


Fig. 3d

ERSATZBLATT (REGEL 26)

Maus Hirn Koronaranschnitt



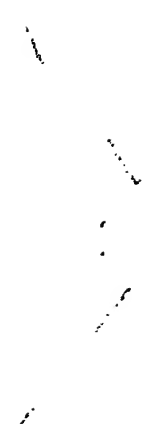
**Fig. 3f**

Maus Hirn Sagitalanschnitt



**Fig. 3e**

Maus Hirn Horizontalanschnitt



**Fig. 3g**



Maus Plexus choroideus

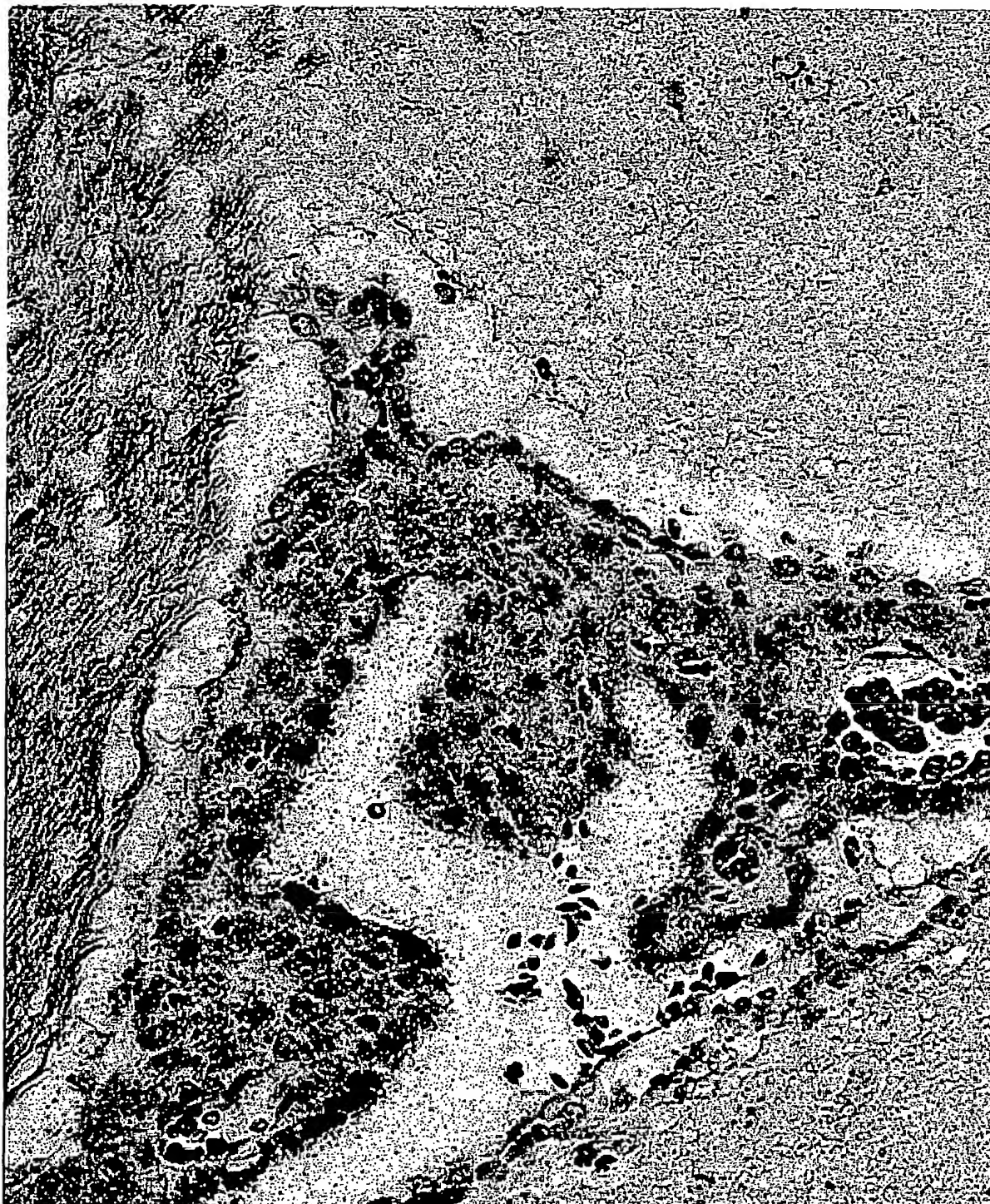


Fig. 3h

ERSATZBLATT (REGEL 26)

15/21

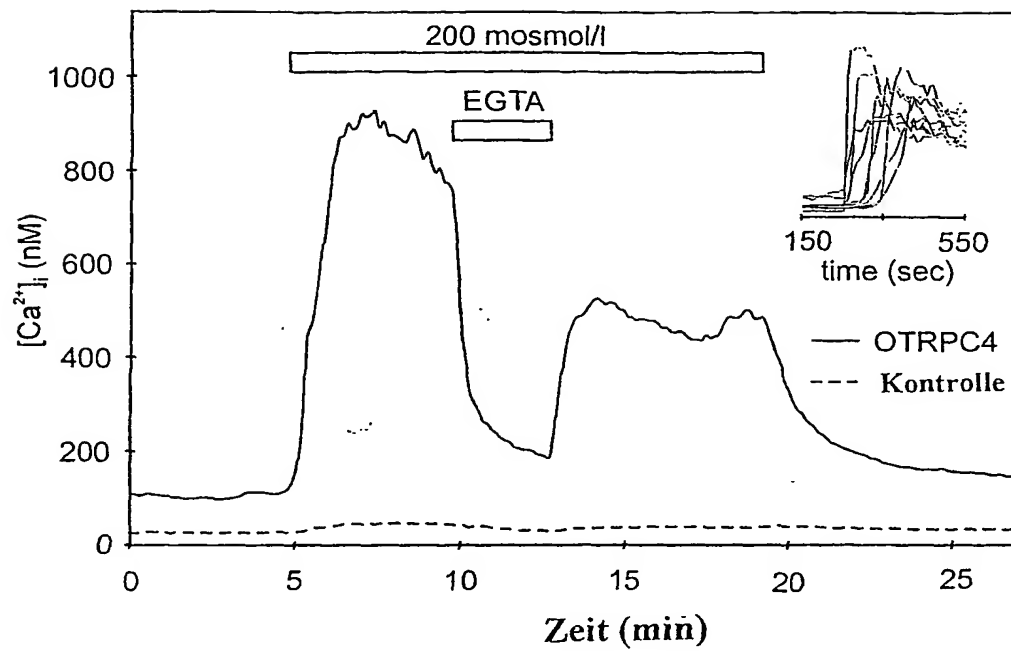


Fig. 4



16/21

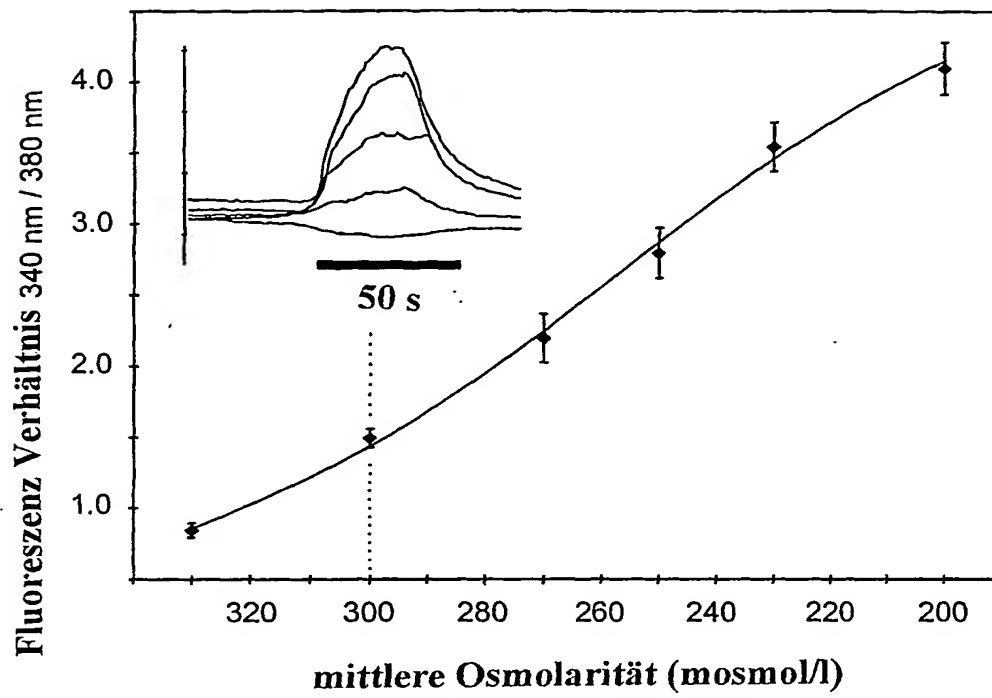


Fig. 5

17/21

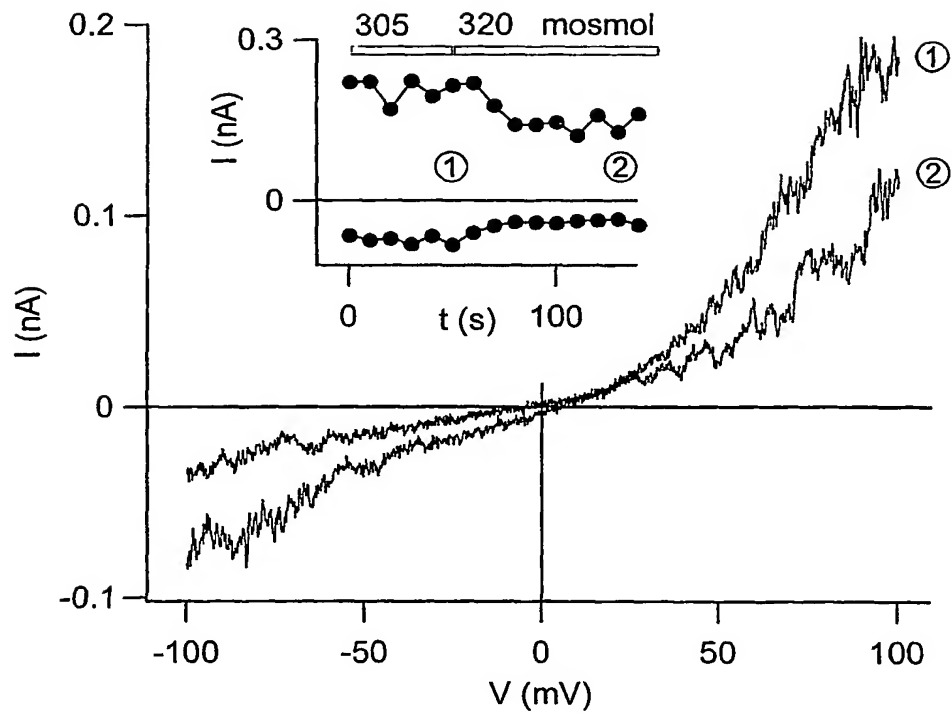


Fig. 6

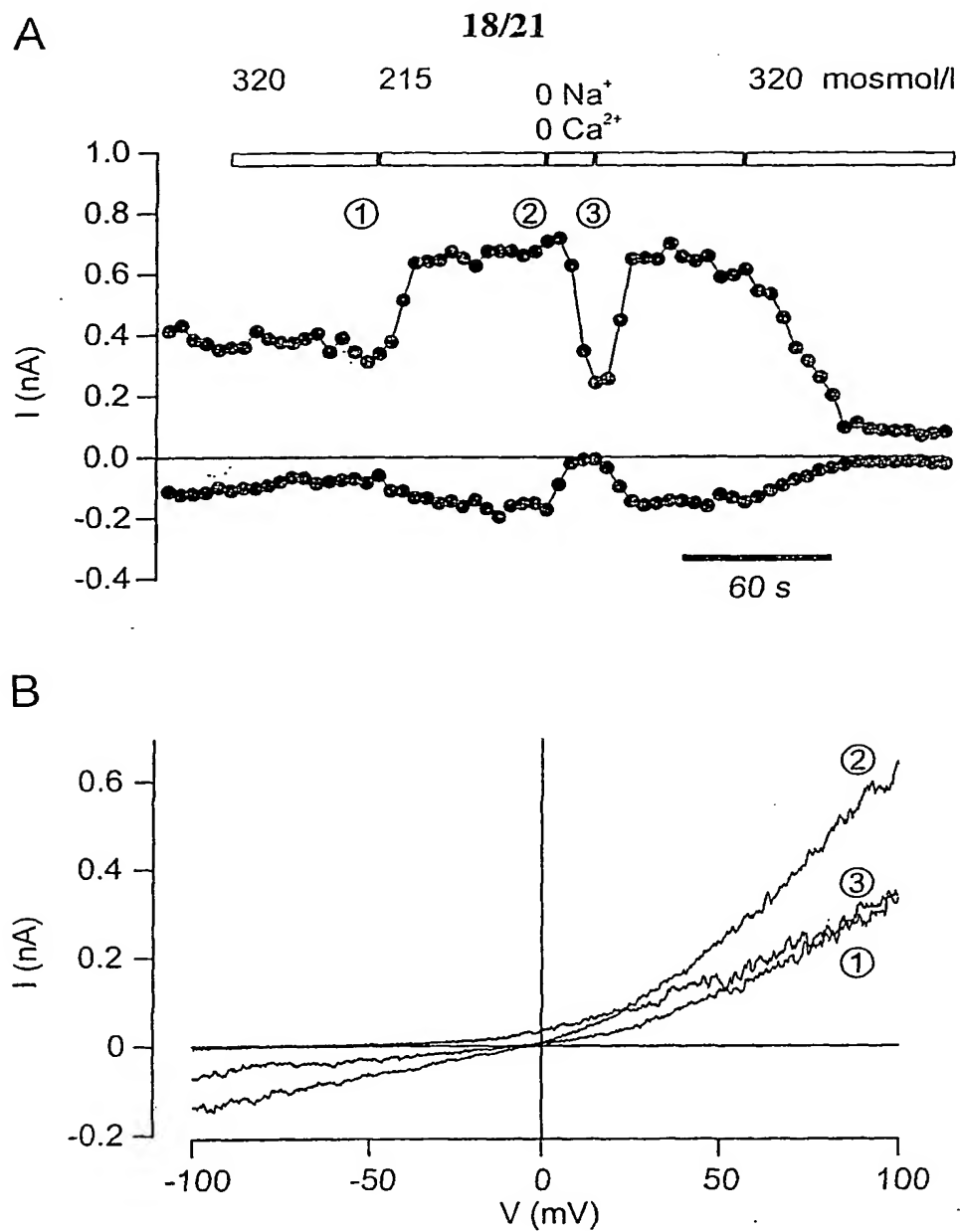


Fig. 7

19/21

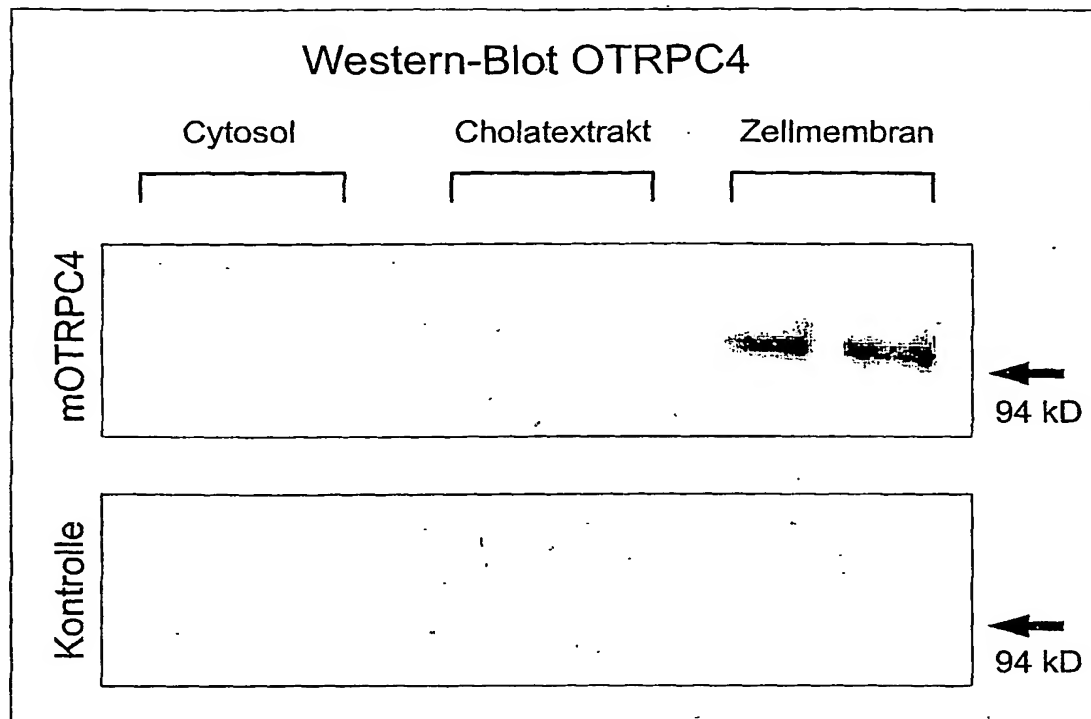


Fig. 8

20/21

# Calcium-abhängige Fluoreszenzänderungen an Fura-2 beladenen Plexus choroideus-Zellen

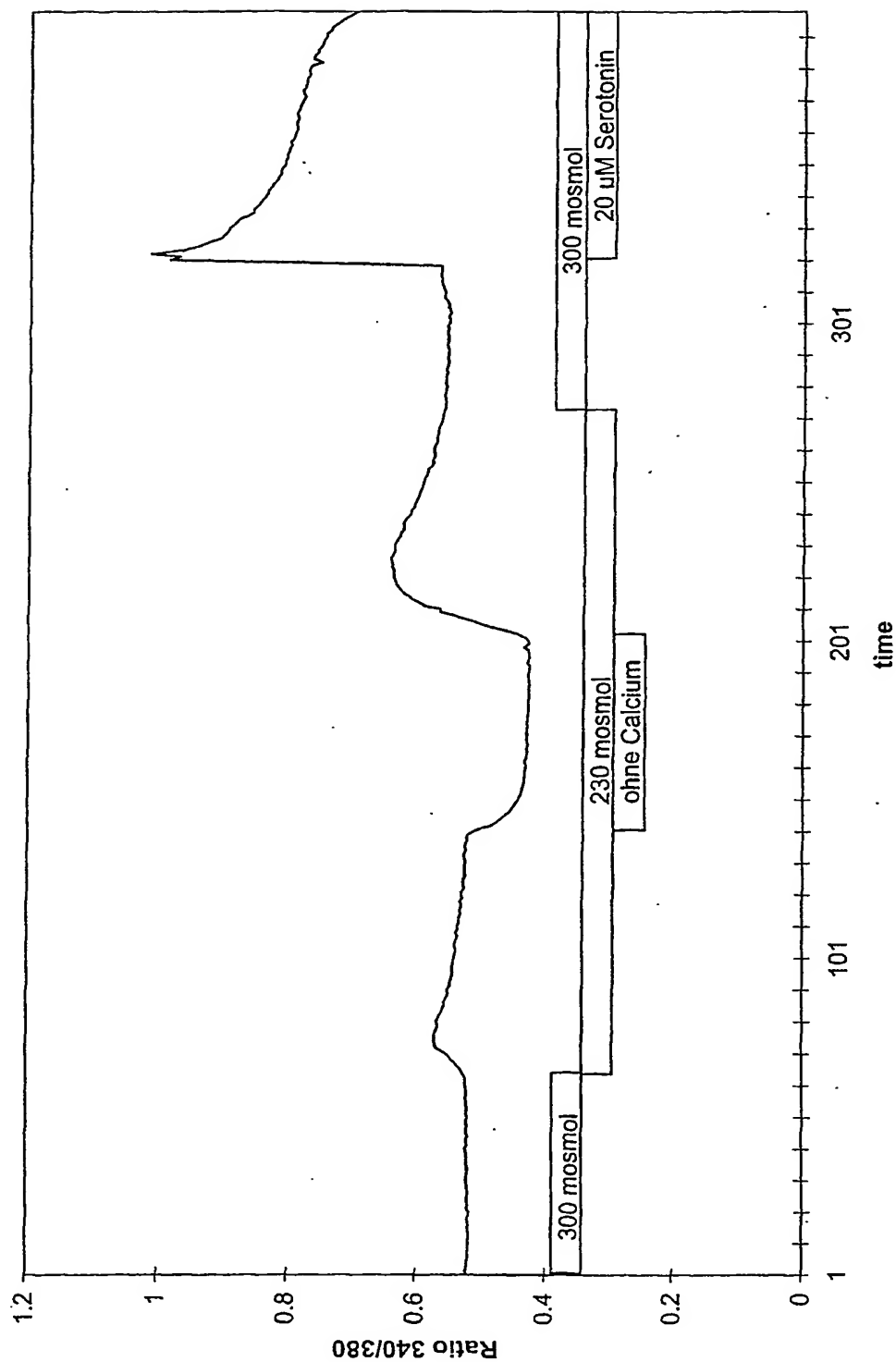
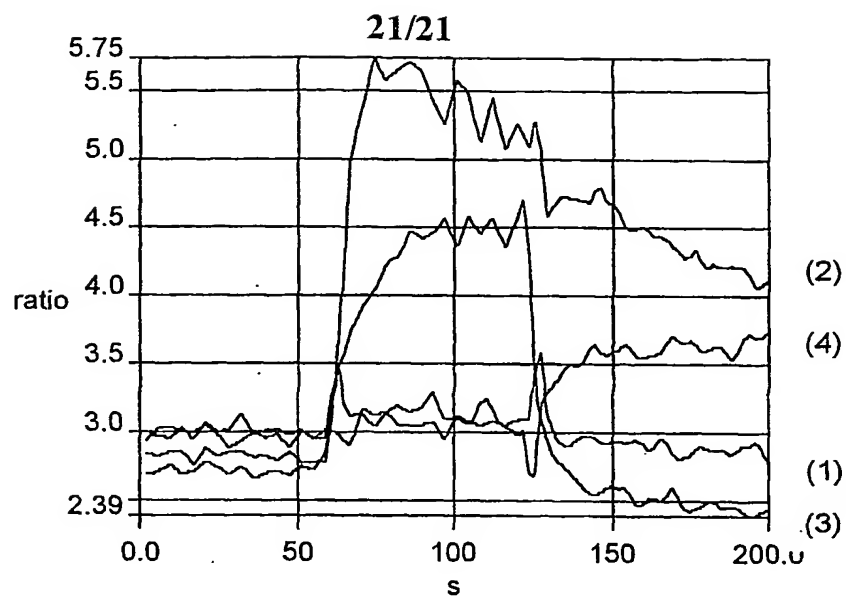


Fig. 9



- (1) Leerwert
- (2) Ionomycin (2  $\mu$ M) EGTA
- (3) hypotone Lösung (220 mosmol/l) EGTA
- (4) LOE908(100  $\mu$ M) hypotone Lösung (220 mosmol/l)

**Fig. 10**

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; Boehringer Ingelheim Pharma KG

&lt;120&gt; Neuer nichtselektiver Kationenkanal

&lt;130&gt; 1-1128

&lt;140&gt; 100 13 296.0

&lt;141&gt; 2000-03-17

&lt;150&gt; 100 13 296.0

&lt;151&gt; 2000-03-17

&lt;160&gt; 13

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 3202

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 1

```
ctctcaccgc ctactaccag ccgctggagg gcacaatggc ggattccagc gaaggccccc 60
gcgcgggggc cggggagggtg gctgagctcc cgggggatga gaggggcacc ccagggtggg 120
aggcttttcc tctctcctcc ctggccaatc tgtttgaggg ggaggatggc tccctttcgc 180
cctcaccggc tgatgccagt cgccctgctg gcccaggcga tgggcgacca aatctgcgca 240
tgaagttcca gggcgccctc cgcaaggggg tgcccaacc ccatgatctg ctggagtcca 300
ccctatatga gtcctcggtg gtgcctgggc ccaagaaagc acccatggac tcactgtttg 360
actacggcac ctatcgtcac cactccagtg acaacaagag gtggaggaag aagatcatag 420
agaagcagcc gcagagcccc aaagcccctg cccctcagcc gccccccatc ctcaaagtct 480
tcaaccggcc tctcctcttt gacatcgtgt cccggggctc cactgctgac ctggacgggc 540
tgctcccatt ctgctgacc cacaagaaac gcctaactga tgaggagttt cgagagccat 600
ctacggggaa gacctgctg cccaaggcct tgctgaacct gagcaatggc cgcaacgaca 660
ccatccctgt gctgctggac atcgcgagc gcaccggcaa catgcgggag ttcatctaact 720
cgcccttccg tgacatctac tatcgaggtc agacagccct gcacatcgcc attgagcgctc 780
gctgcaaaca ctacgtggaa cttctcgtgg cccaggggagc tgatgtccac gcccaggccc 840
gtgggcgctt ctccagccc aaggatgagg ggggctactt ctactttggg gagctgcccc 900
tgtcgtggtg tgccctgcacc aaccagcccc acattgtcaa ctacctgacg gagaaccccc 960
acaagaaggc ggacatgcgg cgccaggact cgcgaggcaa cacagtgtg catgcgctgg 1020
tggccattgc tgacaacacc cgtgagaaca ccaagtttgt taccaagatg tacgacctgc 1080
tgctgctcaa gtgtgcccg ctttcccccg acagcaacct ggaggccgtg ctcaacaacg 1140
acggcctctc gccctcatg atggctgcca agacgggcaa gattgggatc tttcagcaca 1200
tcatccggcg ggaggtgacg gatgaggaca cacggcacct gtcccgcaag ttcaaggact 1260
gggcctatgg gccagtgtat tcctcgcttt atgacctctc ctccctggac acgtgtgggg 1320
aagaggcctc cgtgctggag atcctggtgt acaacagcaa gattgagaac cgccacgaga 1380
tgctggctgt ggagcccatc aatgaactgc tgccgggaaa gtggcgcaag ttccggggccg 1440
tctccttcta catcaacgtg gtctcctacc tgtgtgccat ggtcatcttc actctcaccg 1500
```

cctactacca	gccgctggag	ggcacaccgc	cgtaccctta	ccgcaccacg	gtggactacc
1560					
tgcggctggc	tggcgaggtc	attacgctct	tcactgggggt	cctgttcttc	ttcaccaaca
1620					
tcaaagactt	gttcatgaag	aaatgccctg	gagtgaattc	tctcttcatt	gatggctcct
1680					
tccagctgct	ctacttcatc	tactctgtcc	tggtgatcgt	ctcagcagcc	ctctacctgg
1740					
cagggatcga	ggcctacctg	gccgtgatgg	tctttgccct	ggtcctgggc	tggatgaatg
1800					
ccctttactt	caccctgggg	ctgaagctga	cggggaccta	tagcatcatg	atccagaaga
1860					
ttctcttcaa	ggaccttttc	cgattcctgc	tcgtctactt	gctcttcatt	atcggctacg
1920					
cttcagccct	gggtctccctc	ctgaaccctg	gtgccaacat	gaagggtgtg	aatgaggacc
1980					
agaccaactg	cacagtgtcc	acttaccctc	cgtgccgtga	cagcgagacc	ttcagcacct
2040					
tcctcctgga	cctgtttaag	ctgaccatcg	gcattgggca	cctggagatg	ctgagcagca
2100					
ccaagtaccc	cgtggtcttc	atcatcctgc	tggtgacctc	catcatcctc	acctttgtgc
2160					
tgctcctcaa	catgctcatt	gccctcatgg	gcgagacagt	gggccagggtc	tccaaggaga
2220					
gcaagcacat	ctggaagctg	cagtgggcca	ccaccatcct	ggacattgag	cgctccttcc
2280					
ccgtattcct	gaggaaggcc	ttccgctctg	gggagatggg	caccgtgggc	aagagctcgg
2340					
acggcactcc	tgaccgcagg	tggtgcttca	gggtggatga	gggtgaactgg	tctcactgga
2400					
accagaactt	gggcatcatc	aacgaggacc	cgggcaagaa	tgagacctac	cagtattatg
2460					
gcttctcgca	taccgtgggc	cgcctccgca	gggatcgctg	gtcctcggtg	gtaccccgcg
2520					
tggtggaact	gaacaagaac	tcgaaccctg	acgaggtggg	gggtgcctctg	gacagcatgg
2580					
ggaacccccg	ctgcgatggc	caccagcagg	gttacccccg	caagtggagg	actgaggacg
2640					
ccccgctcta	gggactgcag	cccagcccca	gcttctctgc	ccactcattt	ctagtccagc
2700					
cgcatctcag	cagtgccttc	tgggggtgtcc	ccccacaccc	tgctttggcc	ccagaggcga
2760					
gggaccagtg	gaggtgccag	ggaggcccca	ggaccctgtg	gtcccctggc	tctgcctccc
2820					
caccctgggg	tgggggctcc	cggccacctg	tcttgctcct	atggagtcac	ataagccaac
2880					
gccagagccc	ctccacctca	ggccccagcc	cctgcctctc	cattatattat	ttgctctgct
2940					
ctcaggaagc	gacgtgaccc	ctgccccagc	tggaacctgg	cagaggcctt	aggaccccg
3000					
tccaagtgca	ctgcccggcc	aagccccagc	ctcagcctgc	gcctgagctg	catgcgccac
3060					
catttttggc	agcgtggcag	ctttgcaagg	ggctggggcc	ctcggcgctg	ggccatgcct
3120					
tctgtgtgtt	ctgtagtgct	tgggatttgc	cggtgctcaa	taaatgttta	ttcattgacg
3180					
gtgaaaaaaa		aaaaaaaaaa			aa
3202					



<210> 2  
 <211> 3202  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

ctctcaccgc ctactaccag ccgctggagg gcacaatggc ggattccagc gaaggccccc 60
gcgcggggcc cggggagggtg gctgagctcc ccggggatga gagtggcacc ccagggtggg 120
aggcttttcc tctctcctcc ctggccaatc tgtttgaggg ggaggatggc tccctttcgc 180
cctcaccggc tgatgccagt cgccttgctg gcccaggcga tgggcgacca aatctgcgca 240
tgaagtcca gggcgcttc cgcaaggggg tgcccaaccc catcgatctg ctggagtcca 300
ccctatatga gtcctcggtg gtgcctgggc ccaagaaagc acccatggac tcactgtttg 360
actacggcac ctatcgtcac cactccagtg acaacaagag gtggaggaag aagatcatag 420
agaagcagcc gcagagcccc aaagccccctg cccctcagcc gccccccatc ctcaaagtct 480
tcaaccggcc tctcctcttt gacatcgtgt cccggggctc cactgctgac ctggacgggc 540
tgctcccat ctgctgacc cacaagaaac gcctaactga tgaggagttt cgagagccat 600
ctacggggaa gacctgcctg cccaaggcct tgctgaacct gagcaatggc cgcaacgaca 660
ccatccctgt gctgctggac atcgcgagc gcaccggcaa catgcgggag ttcattaact 720
cgcccttcgc tgacatctac tatcgaggtc agacagccct gcacatcgcc attgagcgtc 780
gctgcaaaca ctacgtggaa cttctcgtgg cccaggggagc tgatgtccac gcccaggccc 840
gtgggcgctt cttccagccc aaggatgagg ggggctactt ctactttggg gagctgcccc 900
tgtcgtggtg tgctgcacc aaccagcccc acattgtcaa ctacctgacg gagaaccccc 960
acaagaaggc ggacatgcgg cgccaggact cgcgaggcaa cacagtgtct catgcgctgg
1020
tggccattgc tgacaacacc cgtgagaaca ccaagtttgt taccaagatg tacgacctgc
1080
tgctgctcaa gtgtgcccgc ctcttccccg acagcaacct ggaggccgtg ctcaacaacg
1140
acggcctctc gccctcatg atggctgcca agacgggcaa gattgggatc tttcagcaca
1200
tcatccggcg ggaggtgacg gatgaggaca cacggcacct gtcccgcaag ttcaaggact
1260
gggcctatgg gccagtgtat tcctcgcttt atgacctctc ctccctggac acgtgtgggg
1320
aagaggcctc cgtgctggag atcctggtgt acaacagcaa gattgagaac cgccacgaga
1380
tgctggctgt ggagcccatc aatgaactgc tgccgggaaa gtggcgcaag ttccggggccg
1440
tctccttcta catcaacgtg gtctcctacc tgtgtgcat ggtcatcttc actctcaccg
1500
cctactacca gccgctggag ggcacaccgc cgtaccctta ccgcaccacg gtggactacc
1560
tgccgctggc tggcgaggtc attacgctct tcaactgggt cctgttcttc ttcaccaaca
1620
tcaaagactt gttcatgaag aaatgccctg gagtgaattc tctcttcatt gatggctcct
1680
tccagctgct ctacttcac tactctgtcc tgggtgatcg ctccagcagc ctctacctgg
1740
cagggatcga ggcctacctg gccgtgatgg tctttgccct ggtcctgggc tggatgaatg
1800
ccctttactt caccgctggg ctgaagctga cggggaccta tagcatcatg atccagaaga
1860
ttctcttcaa ggaccttttc cgattcctgc tcgtctactt gctcttcatt atcggctacg
1920
cttcagccct ggtctccctc ctgaaccctg gtgccaacat gaaggtgtgc aatgaggacc
1980

```

```

agaccaactg  cacagtgcc  acttaccct  cgtgccgtga  cagcgagacc  ttcagcacct
2040
tcctcctgga  cctgtttaag  ctgaccatcg  gcatgggcga  cctggagatg  ctgagcagca
2100
ccaagtaccc  cgtggtcttc  atcatcctgc  tggtagaccta  catcatcctc  acctttgtgc
2160
tgctcctcaa  catgctcatt  gccctcatgg  gcgagacagt  gggccaggtc  tccaaggaga
2220
gcaagcacat  ctggaagctg  cagtgggcc  ccaccatcct  ggacattgag  cgctccttcc
2280
ccgtattcct  gaggaaggcc  ttccgctctg  gggagatggg  caccgtgggc  aagagctcgg
2340
acggcactcc  tgaccgcagg  tgggtgcttca  ggggtggatga  ggtgaactgg  tctcactgga
2400
accagaactt  gggcatcatc  aacgaggacc  cgggcaagaa  tgagacctac  cagtattatg
2460
gcttcctcgca  taccgtgggc  cgcctccgca  gggatcgctg  gtcctcgggtg  gtaccccgcg
2520
tgggtggaact  gaacaagaac  tcgaaccgga  acgaggtggg  ggtgcctctg  gacagcatgg
2580
ggaacccccg  ctgcatgggc  caccagcagg  gttacccccg  caagtggagg  actgaggacg
2640
ccccgctcta  gggactgcag  ccagcccca  gcttctctgc  ccaactatct  ctagtccagc
2700
cgcatctcag  cagtgccttc  tgggggtgtcc  cccacacccc  tgctttggcc  ccagaggcga
2760
gggaccagtg  gaggtgccag  ggaggcccca  ggaccctgtg  gteccctggc  tctgcctccc
2820
caccctgggg  tgggggctcc  cggccacctg  tcttgctcct  atggagtcac  ataagccaac
2880
gccagagccc  ctccacctca  ggccccagcc  cctgcctctc  cattatttat  ttgctctgct
2940
ctcaggaagc  gacgtgacct  ctgccccagc  tggaacctgg  cagaggcctt  aggaccccg
3000
tccaagtgca  ctgcccggcc  aagccccagc  ctgagcctgc  gcctgagctg  catgcgccac
3060
catttttggc  agcgtggcag  ctttgcaagg  ggctggggcc  ctgggcgtgg  ggccatgcct
3120
tctgtgtgtt  ctgtagtgtc  tgggatttgc  cgggtgctcaa  taaatgttta  ttcattgacg
3180
gtgaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aa
3202

```

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 2616

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 3

```

atggcggatt  ccagcgaagg  cccccgcgcg  gggcccgggg  aggtggctga  gctccccggg  60
gatgagagtg  gcaccccagg  tggggaggct  tttcctctct  cctccctggc  caatctgttt  120
gagggggagg  atggctccct  ttgcacctca  cggctgatg  ccagtcgccc  tgctggccca  180
ggcgtatggc  gaccaaactc  gcgcatgaag  ttccagggcg  ctttccgcaa  ggggggtgcc  240
aaccatcg  atctgctgga  gtccacctta  tatgagtcct  cgggtggtgc  tggggccaag  300
aaagcaccca  tggactcact  gtttgactac  ggcacctatc  gtcaccactc  cagtgacaac  360
aagaggtgga  ggaagaagat  catagagaag  cagccgcaga  gcccacaagc  ccctgcccct  420
cagccgcccc  ccacccctca  agtcttcaac  cggcctatcc  tctttgacat  cgtgtccccg  480

```

```

ggctccactg ctgacctgga cgggctgctc ccattcttgc tgaccacaaa gaaacgccta 540
actgatgagg agtttcgaga gccatctacg gggaagacct gcctgcccac ggccttgctg 600
aacctgagca atggccgcaa cgacaccatc cctgtgctgc tggacatcgc ggagcgcacc 660
ggcaacatgc gggagttcat taactcgccc ttccgtgaca tctactatcg aggtcagaca 720
gccctgcaca tcgccattga gcgtcgctgc aaacactacg tggaaacttct cgtggcccag 780
ggagctgatg tccacgccc ggcctgtgg cgcttcttcc agcccagga tgaggggggc 840
tacttctact ttggggagct gccctgtcg ctggctgcct gcaccaacca gcccacatt 900
gtcaactacc tgacggagaa cccccacaag aaggcggaca tgcggcgcca ggactcgcga 960
ggcaacacag tgctgcatgc gctggtggcc attgctgaca acaccctga gaacaccaag
1020
tttgttacca agatgtacga cctgctgctg ctcaagtgtg cccgcctctt ccccgacagc
1080
aacctggagg ccgtgctcaa caacgacggc ctctcgcccc tcatgatggc tgccaagacg
1140
ggcaagattg ggatctttca gcacatcatc cggcgggagg tgacggatga ggacacacgg
1200
cacctgtccc gcaagttcaa ggactgggccc tatggggccag tgtattcctc gctttatgac
1260
ctctcctccc tggacacgtg tggggaagag gcctccgtgc tggagatcct ggtgtacaac
1320
agcaagattg agaaccgcca cgagatgctg gctgtggagc ccatcaatga actgctgcgg
1380
gacaagtggc gcaagttcgg ggccgtctcc ttctacatca acgtggtctc ctacctgtgt
1440
gccatggtca tcttctactc caccgcctac taccagccgc tggagggcac accgccgtac
1500
ccttaccgca ccacggtgga ctacctgcgg ctggctggcg aggtcattac gctcttctact
1560
ggggtcctgt tcttcttcac caacatcaaa gacttgttca tgaagaaatg ccctggagtg
1620
aattctctct tcattgatgg ctcttccag ctgctctact tcatctactc tgtcctggtg
1680
atcgtctcag cagccctcta cctggcaggg atcgaggcct acctggccgt gatggtcttt
1740
gccctggtcc tgggctggat gaatgccctt tacttcaccc gtgggctgaa gctgacgggg
1800
acctatagca tcatgatcca gaagattctc ttcaaggacc ttttccgatt cctgctcgtc
1860
tacttgctct tcatgatcgg ctacgcttca gccctggtct ccctcctgaa cccgtgtgcc
1920
aacatgaagg tgtgcaatga ggaccagacc aactgcacag tgcccactta cccctcgtgc
1980
cgtgacagcg agaccttcag caccttcctc ctggacctgt ttaagctgac catcggcatg
2040
ggcgacctgg agatgctgag cagcaccaag taccctgtgg tcttcatcat cctgctggtg
2100
acctacatca tcctcacctt tgtgctgctc ctcaacatgc tcattgccct catgggcgag
2160
acagtggggc aggtctccaa ggagagcaag cacatctgga agctgcagtg ggccaccacc
2220
atcctggaca ttgagcgctc ctccccgta ttcttgagga aggccttccg ctctggggag
2280
atggtcaccg tgggcaagag ctcgacggc actcctgacc gcagggtggtg cttcagggtg
2340
gatgaggtga actggtctca ctggaaccag aacttgggca tcatcaacga ggaccggggc
2400
aagaatgaga cctaccagta ttatggcttc tcgcataacc tgggccgcct ccgcagggat
2460

```

```

cgctggtcct  cggtggtacc  ccgctggtg  gaactgaaca  agaactcgaa  cccggacgag
2520
gtggtggtgc  ctctggacag  catggggaac  ccccgctgcg  atggccacca  gcagggttac
2580
ccccgcaagt          ggaggactga          ggacgccccg          ctctag
2616

```

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 2616

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 4

```

atggcggatt  ccagcgaagg  cccccgcgcg  ggccccgggg  aggtggctga  gctccccggg  60
gatgagagtg  gcaccccagg  tggggaggct  ttccctctct  cctccctggc  caatctgttt  120
gagggggagg  atggctccct  ttgcacctca  ccggtgatg  ccagtcgccc  tgctggccca  180
ggcgatgggc  gaccaaattct  gcgcatgaag  ttccaggggc  cttccgcaa  ggggggtgcc  240
aaccctatcg  atctgctgga  gtccacccta  tatgagtcct  cggtggtgcc  tgggcccagg  300
aaagcaccca  tggactcact  gtttgactac  ggacactatc  gtcaccactc  cagtgacaac  360
aagaggtgga  ggaagaagat  catagagaag  cagccgcaga  gccccaaagc  ccctgcccct  420
cagccgcccc  ccattcctca  agtcttcaac  cggcctatcc  tctttgacat  cgtgtcccgg  480
ggctccactg  ctgacctgga  cgggctgctc  ccattcttgc  tgaccacaaa  gaaacgccta  540
actgatgagg  agtttcgaga  gccatctacg  gggaagacct  gcctgcccac  ggccttgctg  600
aacctgagca  atggccgcaa  cgacaccatc  cctgtgctgc  tggacatcgc  ggagcgcacc  660
ggcaacatgc  gggagttcat  taactcgccc  ttccgtgaca  tctactatcg  aggtcagaca  720
gccctgcaca  tcgccattga  gcgtcgctgc  aaacactacg  tggaaacttct  cgtggcccag  780
ggagctgatg  tccacgcccc  ggcccgtggg  cgcttcttcc  agcccaagga  tgaggggggc  840
tactttctact  ttggggagct  gcccctgtcg  ctggctgcct  gcaccaacca  gcccacatt  900
gtcaactacc  tgacggagaa  cccccacaag  aaggcggaca  tgcggcgcca  ggactcgcga  960
ggcaacacag  tgctgcatgc  gctggtggcc  attgctgaca  acaccgtga  gaacaccaag  1020
tttgttacca  agatgtacga  cctgctgctg  ctcaagtgtg  cccgcctctt  ccccgacagc  1080
aacctggagg  ccgtgctcaa  caacgacggc  ctctcgcccc  tcatgatggc  tgccaagacg  1140
ggcaagattg  ggatctttca  gcacatcatc  cggcgggagg  tgacggatga  ggacacacgg  1200
cacctgtccc  gcaagttcaa  ggactggggc  tatgggccag  tgtattcctc  gctttatgac  1260
ctctcctccc  tggacacgtg  tggggaagag  gcctccgtgc  tggagatcct  ggtgtacaac  1320
agcaagattg  agaaccgcca  cgagatgctg  gctgtggagc  ccatcaatga  actgctgcgg  1380
gacaagtggc  gcaagttcgg  ggccgtctcc  ttctacatca  acgtggtctc  ctacctgtgt  1440
gccatggtca  tcttcactct  caccgcctac  taccagccgc  tggagggcac  accgccgtac  1500
ccttaccgca  ccacgggtgga  ctacctgcgg  ctggctggcg  aggtcattac  gctcttcact  1560
ggggtcctgt  tcttcttcac  caacatcaaa  gacttgttca  tgaagaaatg  ccctggagtg  1620
aattctctct  tcattgatgg  ctcttccag  ctgctctact  tcatctactc  tgtcctggtg  1680
atcgtctcag  cagccctcta  cctggcaggg  atcgaggcct  acctggccgt  gatggtcttt  1740
gccctggtcc  tgggctggat  gaatgccctt  tacttcaccc  gtgggctgaa  gctgacgggg  1800

```

acctatagca 1860	tcatgatcca	gaagattctc	ttcaaggacc	ttttccgatt	cctgctcgtc
tacttgctct 1920	tcatgatcgg	ctacgcttca	gccctgggtct	ccctcctgaa	cccgtgtgcc
aacatgaagg 1980	tgtgcaatga	ggaccagacc	aactgcacag	tgcccactta	cccctcgtgc
cgtgacagcg 2040	agaccttcag	caccttcctc	ctggacctgt	ttaagctgac	catcggcatg
ggcgacctgg 2100	agatgctgag	cagcaccaag	taccccggtg	tcttcatcat	cctgctgggtg
acctacatca 2160	tcctcacctt	tgtgctgctc	ctcaacatgc	tcattgccct	catgggagag
acagtgggccc 2220	aggtctccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agctgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	ttgagcgctc	cttccccgta	ttcctgagga	aggccttccg	ctctggggag
atggtcaccg 2340	tgggcaagag	ctcggacggc	actcctgacc	gcaggtgggtg	cttcagggtg
gatgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcatcaacga	ggaccggggc
aagaatgaga 2460	cctaccagta	ttatggcttc	tcgcataccg	tgggccgcct	ccgcagggat
cgctggtcct 2520	cggtggtacc	ccgcgtgggtg	gaactgaaca	agaactcgaa	cccggacgag
gtggtggtgc 2580	ctctggacag	catggggaac	ccccgctgcg	atggccacca	gcagggttac
ccccgcaagt 2616		ggaggactga		ggacgccccg	ctctag

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 3324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 5

ggccacgcgt	cgactagtag	gggggggggg	ggggggggtg	crgrggakc	aggactcggc	60
cggagggatc	aggaagcggc	ggcgctgcgc	ccgcgtcctg	aggctgagaa	gtacaaacag	120
atctgggtcc	agtatggcag	atcctgggtg	tgggtccccg	gcagcgcttg	gggaggtggc	180
tgagccccct	ggagatgaga	gtggtacctc	tgggtggggag	gccttcccc	tctcttccct	240
ggccaatctg	tttgaggggg	aggaaggctc	ctcttctctt	tccccggttg	atgctagccg	300
ccctgctggc	cctggcgatg	gacgtccaaa	cctgcgtatg	aagttccagg	gcgctttccg	360
caaggggggt	ccaaccccca	ttgacctgtt	ggagtccacc	cggtacgagt	cctcagtagt	420
gcctggggcc	aagaaagcgc	ccatggattc	cttggttcgac	tacggcactt	accgtcacca	480
ccccagtgac	aacaagagat	ggaggagaaa	ggtcgtggag	aagcagccac	agagcccaa	540
agctcctgca	ccccagccac	cccccatcct	caaagtcttc	aatcggccca	tcctctttga	600
cattgtgtcc	cggggctcca	ctgcggacct	agatggactg	ctctccttct	tgttgaccca	660
caagaagcgc	ctgactgatg	aggagttccg	ggagccgtcc	acggggaaga	cctgcctgcc	720
caaggcgctg	ctgaacctaa	gcaacggggc	caacgacacc	atcccgggtg	tgctggacat	780
tgcgagagcg	accggcaaca	tgcgtgaatt	catcaactcg	cccttcagag	acatctacta	840
ccgaggccag	acatccctgc	acattgccat	cgaacggcgc	tgcaagcact	acgtggagct	900
gctgggtggc	cagggagccg	acgtgcacgc	ccaggccccg	ggccgcttct	tccagcccaa	960
ggatgaggga	ggctacttct	actttgggga	gctgcctctg	tcctggcag	cctgcaccaa	1020
ccagccgcac	atcgtcaact	acctgacaga	gaaccctcac	aagaaagctg	acatgaggcg	1080
acaggactcg	agggggaaca	cggtgctgca	cgcgctgggtg	gccatcgccg	acaacacccg	1140

agagaacacc 1200	aagtttgtca	ccaagatgta	cgacctgctg	cttctcaagt	gttcacgcct
cttccccgac 1260	agcaacctgg	agacagttct	caacaatgat	ggcctttcgc	ctctcatgat
ggctgccaaag 1320	acaggcaaga	tcgggggtctt	tcagcacatc	atccgacgtg	aggtgacaga
tgaggacacc 1380	cggcatctgt	ctcgcaagtt	caaggactgg	gcctatgggc	ctgtgtattc
ttctctctac 1440	gacctctcct	ccctggacac	atgcggggag	gaggtgtccg	tgctggagat
cctgggtgtac 1500	aacagcaaga	tcgagaaccg	ccatgagatg	ctggctgtag	agccattaa
cgaactgttg 1560	agagacaagt	ggcgtaagtt	tggggctgtg	tccttctaca	tcaacgtggt
ctcctatctg 1620	tgtgccatgg	tcatcttcac	cctcaccgcc	tactatcagc	cactggaggg
cacgccaccc 1680	tacccttacc	ggaccacagt	ggactacctg	aggctggctg	gcgaggtcat
cacgctcttc 1740	acaggagtcc	tggtcttctt	taccagtatc	aaagacttgt	tcacgaagaa
atgccctgga 1800	gtgaattctc	tcttcgtcga	tggctccttc	cagttactct	acttcatcta
ctctgtgctg 1860	gtggttgtct	ctgcggcgct	ctacctggct	gggatcgagg	cctacctggc
tgtgatggtc 1920	tttgccctgg	tcctgggctg	gatgaatgcg	ctgtacttca	cgcgcggggt
gaagctgacg 1980	gggacctaca	gcatcatgat	tcagaagatc	ctcttcaaag	acctcttccg
cttcctgctt 2040	gtgtacctgc	tcttcatgat	cggctatgcc	tcagccctgg	tcaccctcct
gaatccgtgc 2100	accaacatga	aggtctgtga	cgaggaccag	agcaactgca	cggtgcccac
gtatcctgcg 2160	tgccgcgaca	gcgagacctt	cagcgccctc	ctcctggacc	tcttcaagct
caccatcggc 2220	atgggagacc	tggagatgct	gagcagcgcc	aagtaccccg	tggtcttcat
cctcctgctg 2280	gtcacctaca	tcatcctcac	cttcgtgctc	ctggtgaaca	tgcttatcgc
cctcatgggt 2340	gagaccgtgg	gccaggtgtc	caaggagagc	aagcacatct	ggaagttgca
gtgggcccacc 2400	accatcctgg	acatcgagcg	ttccttccct	gtgttcctga	ggaaggcctt
ccgctccgga 2460	gagatggtga	ctgtgggcaa	gagctcagat	ggcactccgg	accgcaggtg
gtgcttcagg 2520	gtggacgagg	tgaactggtc	tcactggaac	cagaacttgg	gcatcattaa
cgaggaccct 2580	ggcaagagtg	aaatctacca	gtactatggc	ttctcccaca	ccgtggggcg
ccttcgtagg 2640	gatcgttggt	cctcggtggt	gccccgcgta	gtggagctga	acaagaactc
aagcgcagat 2700	gaagtgggtg	tacccttgga	taacctaggg	aaccccaact	gtgacggcca
ccagcagggc 2760	tacgctccca	agtggaggac	ggacgatgcc	ccactgtagg	ggccgtgcca
gagctcgcac 2820	agatagtcca	ggcttggcct	tcgctcccac	ctacatttag	gcatttgtcc
ggtgtcttcc 2880	cacacccgca	tgggaccttg	gaggtgaggg	cctctgtggc	gactctgtgg

```

aggccccagg accctctggt ccccgccaag acttttgcct tcagctctac tccccacatg
2940
ggggggcggg gctcctggct acctgtctcg ctcgctccca tggagtcacc taagccagca
3000
caaggccct ctcctcgaaa ggctcaggcc ccatccctct tgtgtattat ttattgctct
3060
cctcaggaaa atgggggtggc aggagtccac ccgcggtgg aacctggcca gggctgaagc
3120
tcatgcaggg acgctgcagc tccgacctgc cacagatctg acctgctgca gccctggcta
3180
gtgtgggtct tctgtacttt gaagagatcg gggccgctgg tgctcaataa atgtttattc
3240
tcggtggaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa
3324

```

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 3324

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 6

```

ggccacgcgt cgactagtac gggggggggg ggggggggtg crgsrggkac aggactcggc 60
cggaggggatc aggaagcggc ggcgctgcgc ccgctcctg aggctgagaa gtacaaacag 120
atctgggtcc agtatggcag atcctggtga tgggtcccggt gcagcgctg gggaggtggc 180
tgagccccct ggagatgaga gtggtacctc tgggtggggag gccttcccc tctcttccct 240
ggccaatctg tttgaggggg aggaaggctc ctcttctctt tccccgggtg atgctagccg 300
ccctgctggc cctggcgatg gacgtccaaa cctgctgatg aagttccagg gcgcttcccg 360
caaggggggt cccaacccca ttgacctgtt ggagtccacc cgttacgagt cctcagtagt 420
gcttggggcc aagaagcgc ccatggattc cttgttcgac tacggcactt accgtcacca 480
ccccagtga aacaagagat ggaggagaaa ggtcgtggag aagcagccac agagcccaa 540
agctcctgca cccagccac ccccatcct caaagtctt aatcgggcca tcctctttga 600
cattgtgtcc cggggctcca ctgcggtacc agatggactg ctctccttct tgttgacca 660
caagaagcgc ctgactgatg aggagttccg ggagccgtcc acggggaaga cctgcctgcc 720
caaggcgctg ctgaacctaa gcaacgggcg caacgacacc atcccgtgt tgctggacat 780
tgcggagcgc accggcaaca tgcgtgaatt catcaactcg cccttcagag acatctacta 840
ccgaggccag acatccctgc acattgccat cgaacggcgc tgcaagcact acgtggagct 900
gctggtggcc cagggagccg acgtgcacgc ccaggcccg ggccgcttct tccagcccaa 960
ggatgagggg ggctacttct actttgggga gctgccctg tccctggcag cctgcaccaa 1020
ccagccgcac atcgtcaact acctgacaga gaaccctcac aagaaagctg acatgaggcg 1080
acaggactcg agggggaaca cgggtgctgca cgcgctgggt gccatcgccg acaacacccg 1140
agagaacacc aagtttgtca ccaagatgta cgacctgctg cttctcaagt gttcacgcct 1200
cttccccgac agcaacctgg agacagttct caacaatgat ggcctttcgc ctctcatgat 1260
ggctgccaa agacaggaaga tcgggggtctt tcagcacatc atccgacgtg aggtgacaga 1320
tgaggacacc cggcatctgt ctcgcaagtt caaggactgg gcctatgggc ctgtgtattc 1380
ttctctctac gacctctcct ccctggacac atgcggggag gaggtgtccg tgctggagat 1440
cctggtgtac aacagcaaga tcgagaaccg ccatgagatg ctggctgtag agcccattaa 1500

```

cgaactgttg 1560	agagacaagt	ggcgttaagt	tggggctgtg	tccttctaca	tcaacgtggt
ctcctatctg 1620	tgtgccatgg	tcctcttcac	cctcaccgcc	tactatcagc	cactggaggg
cacgccaccc 1680	tacccttacc	ggaccacagt	ggactacctg	aggctggctg	gcgaggtcat
cacgtctctc 1740	acaggagtcc	tgttcttctt	taccagtatc	aaagacttgt	tcacgaagaa
atgccctgga 1800	gtgaattctc	tcttcgtcga	tggctccttc	cagttactct	acttcatcta
ctctgtgctg 1860	gtggttgtct	ctgcggcgct	ctacctggct	gggatcgagg	cctacctggc
tgtgatggtc 1920	tttgccctgg	tcctgggctg	gatgaatgcy	ctgtacttca	cgcgcggggt
gaagctgacg 1980	gggacctaca	gcatcatgat	tcagaagatc	ctcttcaaag	acctcttccg
cttcctgctt 2040	gtgtacctgc	tcttcatgat	cggctatgcc	tcagccctgg	tcaccctcct
gaatccgtgc 2100	accaacatga	aggtctgtga	cgaggaccag	agcaactgca	cggtgcccac
gtatcctgcy 2160	tgccgcgaca	gcgagacctt	cagcgccctc	ctcctggacc	tcttcaagct
caccatcggc 2220	atgggagacc	tggagatgct	gagcagcgcc	aagtaccccg	tggctctcat
cctcctgctg 2280	gtcacctaca	tcctcctcac	cttcgtgctc	ctggtgaaca	tgcttatcgc
cctcatgggt 2340	gagaccgtgg	gccagggtgc	caaggagagc	aagcacatct	ggaagttgca
gtgggccacc 2400	accatcctgg	acatcgagcy	ttccttccct	gtgttcctga	ggaaggcctt
ccgctccgga 2460	gagatgggtga	ctgtgggcaa	gagctcagat	ggcactccgg	accgcagggtg
gtgcttcagg 2520	gtggacgagg	tgaactggtc	tcactggaac	cagaacttgg	gcatcattaa
cgaggaccct 2580	ggcaagagtg	aatctacca	gtactatggc	ttctcccaca	ccgtggggcg
ccttcgtagg 2640	gatcgtttgt	cctcggttgt	gccccgcgta	gtggagctga	acaagaactc
aagcgcagat 2700	gaagtgggtg	tacccttgga	taacctaggg	aaccccaact	gtgacggcca
ccagcagggc 2760	tacgctccca	agtggaggac	ggacgatgcc	ccactgtagg	ggccgtgcca
gagctcgcac 2820	agatagtcca	ggcttggcct	tcgctcccac	ctacatttag	gcatttgtcc
ggtgtcttcc 2880	cacacccgca	tgggaccttg	gaggtgaggg	cctctgtggc	gactctgtgg
aggccccagg 2940	accctcttgt	ccccgccaa	acttttgcct	tcagctctac	tccccacatg
ggggggcggg 3000	gctcctggct	acctgtctcg	ctcgctccca	tggagtcacc	taagccagca
caaggcccct 3060	ctcctcgaaa	ggctcaggcc	ccatccctct	tgtgtattat	ttattgctct
cctcaggaaa 3120	atgggggtgg	aggagtccac	ccgcggctgg	aacctggcca	gggctgaagc
tcatgcaggg 3180	acgctgcagc	tccgacctgc	cacagatctg	acctgctgca	gccctggcta
gtgtgggtct 3240	tctgtacttt	gaagagatcg	gggccgctgg	tgctcaataa	atgtttattc



```

tcggtggaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa
3300
aaaaaaaaaa
3324                      aaaaaaaaaa                      aaaa

```

```

<210> 7
<211> 2616
<212> DNA
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 7
atggcagatc ctggtgatgg tccccgtgca ggccttgggg aggtggctga gccccctgga 60
gatgagagtg gtacctctgg tggggaggcc ttccccctct cttccctggc caatctgttt 120
gagggggagg aaggctcctc ttctctttcc ccggtggatg ctagccgccc tgetggccct 180
ggcgatggac gtccaaacct gcgtatgaag ttccaggggc ctttccgcaa ggggggtccc 240
aaccocatgg acctgttggg gtccaccogg tacgagtcct cagtagtgcc tgggccaag 300
aaagcgccca tggattcctt gttcgactac ggcacttacc gtcaccacc cagtgaacac 360
aagagatgga ggagaaaggt cgtggagaag cagccacaga gcccacaagc tcctgcaccc 420
cagccacccc ccacctcaa agtcttcaat cggcccatcc tctttgacat tgtgtcccg 480
ggctccactg cggacctaga tggactgctc tccttcttgt tgaccacaa gaagcgctg 540
actgatgagg agttccggga gccgtccacg gggaagacct gcctgcccac ggcgctgctg 600
aacctaagca acgggcgcaa cgacaccatc ccggtgttgc tggacattgc ggagcgacc 660
ggcaacatgc gtgaattcat caactcgccc ttcagagaca tctactaccg aggcagaca 720
tccttgacac ttgccatcga acggcgctgc aagcactacg tggagctgct ggtggcccag 780
ggagccgacg tgcacgccc ggcccgggg cgcttcttcc agcccaagga tgaggaggc 840
tacttctact ttggggaget gcccttgtcc ctggcagcct gcaccaacca gccgcacatc 900
gtcaactacc tgacagagaa cctcacaag aaagctgaca tgaggcgaca ggactcgagg 960
gggaacacgg tgctgcacgc gctggtggcc atcgccgaca acaccgaga gaacaccaag
1020
tttgtcacca agatgtacga cctgctgctt ctcaagtgtt cagcctctt ccccgacagc
1080
aacctggaga cagttctcaa caatgatggc ctttcgcctc tcatgatggc tgccaagaca
1140
ggcaagatcg ggtcttttca gcacatcatc cgacgtgagg tgacagatga ggacaccgg
1200
catctgtctc gcaagttcaa ggactggggc tatgggcctg tgtattcttc tctctacgac
1260
ctctcctccc tggacacatg cggggaggag gtgtccgtgc tggagatcct ggtgtacaac
1320
agcaagatcg agaaccgcca tgagatgctg gctgtagagc ccattaacga actgttgaga
1380
gacaagtggc gtaagtttgg ggctgtgtcc ttctacatca acgtggtctc ctatctgtgt
1440
gccatgggtc tcttcaccct caccgcctac tatcagccac tggagggcac gccaccctac
1500
ccttaccgga ccacagtgga ctacctgagg ctggctggcg aggtcatcac gctcttcaca
1560
ggagtccctg tcttctttac cagtatcaaa gacttggtca cgaagaaatg ccctggagtg
1620
aattctctct tcgtcgatgg ctcttccag ttactctact tcatctactc tgtgctggtg
1680
gttgtctctg cggcgctcta cctggctggg atcgaggcct acctggctgt gatggtcttt
1740
gccctgggtc tgggctggat gaatgcgctg tacttcacgc gcgggttgaa gctgacgggg
1800
acctacagca tcatgattca gaagatcctc ttcaaagacc tcttccgctt cctgcttgtg
1860

```

tacctgctct 1920	tcatgatcgg	ctatgcctca	gccctgggtca	ccctcctgaa	tccgtgcacc
aacatgaagg 1980	tctgtgacga	ggaccagagc	aactgcacgg	tgcccacgta	tcctgcggtgc
cgcgacagcg 2040	agaccttcag	cgccttcctc	ctggacctct	tcaagctcac	catcggcgatg
ggagacctgg 2100	agatgctgag	cagcgccaag	taccccggtg	tcttcatacct	cctgctggtc
acctacatca 2160	tcctcacctt	cgtgctcctg	ttgaacatgc	ttatcgccct	catgggtgag
accgtggggc 2220	aggtgtccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agttgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	tcgagcggtc	cttcctgtg	ttcctgagga	aggccttcg	ctccggagag
atggtgactg 2340	tgggcaagag	ctcagatggc	actccggacc	gcaggtggtg	cttcagggtg
gacgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcattaacga	ggaccctggc
aagagtga 2460	tctaccagta	ctatggcttc	tcccacaccg	tggggcgcc	tcgtagggat
cgttggtcct 2520	cggtggtgcc	ccgcgtagtg	gagctgaaca	agaactcaag	cgcagatgaa
gtggtggtac 2580	ccctggataa	cctaggggaac	cccaactgtg	acggccacca	gcagggtac
gctcccaagt 2616		ggaggacgga		cgatgcccc	ctgtag

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 2616

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 8

atggcagatc	ctggtgatgg	tccccgtgca	gcccctgggg	aggtggctga	gccccctgga	60
gatgagagt	gtacctctg	tggggaggcc	ttccccctct	cttccctggc	caatctgttt	120
gagggggagg	aaggctcctc	ttctctttcc	ccggtggatg	ctagccgccc	tgctggccct	180
ggcgatggac	gtccaaacct	gcgtatgaag	ttccaggggc	ctttccgcaa	gggggttccc	240
aaccccattg	acctgttgga	gtccaccccg	tacgagtcct	cagtagtgcc	tgggcccagg	300
aaagcgccca	tggattcctt	gttcgactac	ggcacttacc	gtcaccaccc	cagtgcacac	360
aagagatgga	ggagaaagg	cgtggagaag	cagccacaga	gccccaaagc	tcctgcaccc	420
cagccacccc	ccatcctcaa	agtcttcaat	cggcccatcc	tctttgacat	tgtgtcccgg	480
ggctccactg	cggacctaga	tggactgctc	tccttcttgt	tgaccacaaa	gaagcgcttg	540
actgatgagg	agttccggga	gccgtccacg	gggaagacct	gcctgcccga	ggcgctgctg	600
aacctaagca	acgggcgcaa	cgacaccatc	ccggtgttgc	tggacattgc	ggagcgaccc	660
ggcaacatgc	gtgaattcat	caactcgccc	ttcagagaca	tctactaccg	aggccagaca	720
tcctgcaca	ttgccatcga	acggcgctgc	aagcactacg	tggagctgct	ggtggcccag	780
ggagccgacg	tgcacgcccc	ggcccgcggc	cgcttcttcc	agcccaagga	tgaggggaggc	840
tactttact	ttggggagct	gcccttgtcc	ctggcagcct	gcaccaacca	gccgcacatc	900
gtcaactacc	tgacagagaa	ccctcacaag	aaagctgaca	tgaggcgaca	ggactcgagg	960
gggaacacgg	tgctgcacgc	gctggtggcc	atcgccgaca	acaccgaga	gaacaccaag	1020
tttgtcacca	agatgtacga	cctgctgctt	ctcaagtgtt	cacgcctctt	ccccgacagc	1080
aacctggaga	cagttctcaa	caatgatggc	ctttcgcctc	tcatgatggc	tgccaagaca	1140
ggcaagatcg	gggtctttca	gcacatcatc	cgacgtgagg	tgacagatga	ggacacccgg	1200

catctgtctc 1260	gcaagttcaa	ggactgggcc	tatgggcctg	tgtattcttc	tctctacgac
ctctcctccc 1320	tggacacatg	cggggaggag	gtgtccgtgc	tggagatcct	gggtgtacaac
agcaagatcg 1380	agaaccgcca	tgagatgctg	gctgtagagc	ccattaacga	actgttgaga
gacaagtggc 1440	gtaagtttgg	ggctgtgtcc	ttctacatca	acgtgggtctc	ctatctgtgt
gccatgggtca 1500	tcttcaccct	caccgcctac	tatcagccac	tggagggcac	gccaccctac
ccttaccgga 1560	ccacagtgga	ctacctgagg	ctggctggcg	aggtcatcac	gctcttcaca
ggagtcctgt 1620	tcttctttac	cagtatcaaa	gacttggtca	cgaagaaatg	ccctggagtg
aattctctct 1680	tcgtcgatgg	ctccttccag	ttactctact	tcacttactc	tgtgctggtg
gttggtctctg 1740	cggcgctcta	cctggctggg	atcgaggcct	acctggctgt	gatggtcttt
gccctgggtcc 1800	tgggctggat	gaatgcgctg	tacttcacgc	gcgggttgaa	gctgacgggg
acctacagca 1860	tcatgattca	gaagatcctc	ttcaaagacc	tcttccgctt	cctgcttggtg
tacctgctct 1920	tcatgatcgg	ctatgcctca	gccctgggtca	ccctcctgaa	tccgtgcacc
aacatgaagg 1980	tctgtgacga	ggaccagagc	aactgcacgg	tgcccacgta	tcctgctgtgc
cgcgacagcg 2040	agaccttcag	cgccttcctc	ctggacctct	tcaagctcac	catcggcatg
ggagacctgg 2100	agatgctgag	cagcgccaag	taccccggtg	tcttcatcct	cctgctggtc
acctacatca 2160	tcctcacctt	cgtgctcctg	ttgaacatgc	ttatcgccct	catgggtgag
accgtggggcc 2220	aggtgtccaa	ggagagcaag	cacatctgga	agttgcagtg	ggccaccacc
atcctggaca 2280	tcgagcggtc	cttcctgtgt	ttcctgagga	aggccttccg	ctccggagag
atggtgactg 2340	tgggcaagag	ctcagatggc	actccggacc	gcaggtggtg	cttcaggggtg
gacgaggtga 2400	actggtctca	ctggaaccag	aacttgggca	tcattaacga	ggaccctggc
aagagtgaag 2460	tctaccagta	ctatggcttc	tcccacaccg	tggggcgctt	tcgtagggat
cggtgggtcct 2520	cggtgggtgcc	ccgcgtagtg	gagctgaaca	agaactcaag	cgcagatgaa
gtggtggtac 2580	ccctggataa	cctagggaac	cccaactgtg	acggccacca	gcagggctac
gctcccaagt 2616	ggaggacgga		cgatgccccca		ctgtag

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 9  
cgtctgcact gctcag 16

<210> 10  
<211> 15  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 10  
ccttcgctgg aatcc 15

<210> 11  
<211> 17  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 11  
gaggagagag gaaaagc 17

<210> 12  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 12  
catgcgcaga tttggtgc 18

<210> 13  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer

<400> 13  
caccgaggac tcatatag 18

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. September 2001 (20.09.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/68698 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12N 15/11**,  
15/12, 15/62, 5/10, C07K 14/47, 14/705, 16/18, A61K  
38/17, 48/00, A01K 67/027, G01N 33/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/02837

(22) Internationales Anmeldedatum:  
14. März 2001 (14.03.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 13 296.0 17. März 2000 (17.03.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): **BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA KG**  
[DE/DE]; 55216 Ingelheim/ Rhein (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHULTZ, Guenter**  
[DE/DE]; Dardanellenweg 30, 12109 Berlin (DE).  
**PLANT, Timothy** [GB/DE]; Potsdamer Str. 16, 12205

Berlin (DE). **STROTMANN, Rainer** [DE/DE]; Goethes-  
trasse 20, 12207 Berlin (DE). **HARTENECK, Christian**  
[DE/DE]; Mattenbuder Pfad 16, 13503 Berlin (DE).  
**NUNNENMACHER, Karin** [DE/DE]; Strasse am  
Schoelerpark 26, 10715 Berlin (DE).

(74) Anwalt: **LAUDIEN, Dieter**; Boehringer Ingelheim  
GmbH, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, MX, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

Veröffentlicht:  
— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 20. Juni 2002

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: NON-SELECTIVE CATION CHANNEL

(54) Bezeichnung: NICHTSELEKTIVER KATIONENKANAL

(57) Abstract: The present invention relates to nucleic acids which code for the non-selective cation channel OTRPC4 and to polypeptides which are coded by said nucleic acids. The invention also relates to hosts or host cells that express said polypeptide and to methods for finding blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels. The invention further relates to blocking agents, activators and modulators of said OTRPC4 cation channels and to pharmaceutical compositions containing said blocking agents, activators and modulators. The invention further relates to non-human mammals that contain OTRPC4 as a transgene, inactivated gene (knock-out) or modified gene (knock-in).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuren, die für den nicht-selektiven Kationenkanal OTRPC4 kodieren, sowie Polypeptide, die durch besagte Nukleinsäuren kodiert werden. Weiterhin betrifft die Erfindung Wirtszellen, die besagtes Polypeptid exprimieren und Verfahren zum Auffinden von Blocker, Aktivator sowie Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle. Die Erfindung umfasst Blocker, Aktivatoren und Modulatoren besagter OTRPC4-Kationenkanäle sowie pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend besagte Blocker, Aktivatoren und Modulatoren. Ausserdem betrifft die Erfindung nicht humane Säuger, die entweder OTRPC4 als Transgen, inaktiviertes Gen (knock-out) oder modifiziertes Gen (knock-in) enthalten.

WO 01/68698 A3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC1/EP 01/02837

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/11 C12N15/12 C12N15/62 C12N5/10 C07K14/47  
C07K14/705 C07K16/18 A61K38/17 A61K48/00 A01K67/027  
G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EBI 'Online! AB021875, 3 September 1999 (1999-09-03) SUZUKI, M.: "Mus musculus mRNA for ion channel, complete cds" XP002182927 86.4 % identity with sequence 1 in 2799 nt 99.4 % identity with sequence 5 in 3231 nt --- -/--	1-33, 35-47, 51-67,71

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 November 2001

Date of mailing of the international search report

16/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kurz, B

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/02837

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online!  AAA29173, 12 September 2000 (2000-09-12)  DELANY, N. S. ET AL.: "Human vanilloid  receptor 3 coding sequence"  XP002182928  99.6 % identity with sequence 1 in 3170 nt  90.8 % identity with sequence 3 in 2616 nt  86.4 % identity with sequence 5 in 2808 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-&amp; WO 00 32766 A (GLAXO GROUP LTD)  8 June 2000 (2000-06-08)    see sequence 4 (= hVR3)</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online!  AF263523, 1 November 2000 (2000-11-01)  LIEDTKE, W. B. ET AL.: "Homo sapiens  vanilloid receptor-related osmotically  activated channel (VROAC) mRNA, complete  cds"  XP002182929  99.6 % identity with sequence 1 in 2843 nt  86.8 % identity with sequence 5 in 2775 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-&amp; LIEDTKE, W. ET AL.: "Vanilloid  receptor-related osmotically activated  channel (VR-OAC), a candidate vertebrate  osmoreceptor"  CELL,  vol. 103, October 2000 (2000-10), pages  525-535, XP002182926  the whole document</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
E	<p>WO 01 46258 A (INCYTE GENOMICS INC  ;AZIMZAI YALDA (US); KHAN FARRAH A (US);  REDDY) 28 June 2001 (2001-06-28) -    99.5 % identity (sequence 29) with sequence ID No.  1 in 1836 nt</p>	1-13,15, 17,19, 29-33, 35-37
E	<p>WO 01 34805 A (ABBOTT LAB)  17 May 2001 (2001-05-17)    99.7 % identity in 3173 nt from Position  29-3200 from sequence ID No. 1</p>	1-13,15, 17,19, 21-33, 35-47, 51,58-64
E	<p>WO 01 53348 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO)  26 July 2001 (2001-07-26)  99.7 % identity in 2412 nt from Position  240-2651 from sequence ID No. 1</p>	1-71

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/02837

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CATERINA ET AL: "A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, vol. 398, 1 April 1999 (1999-04-01), pages 436-441, XP002105951 ISSN: 0028-0836 the whole document ---	1-71
A	CATERINA M J ET AL: "THE CAPSAICIN RECEPTOR: A HEAT-ACTIVATED ION CHANNEL IN THE PAIN PATHWAY" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, vol. 389, 23 October 1997 (1997-10-23), pages 816-824, XP002075020 ISSN: 0028-0836 the whole document -----	1-71



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP01/02837

The International Searching Authority has established that this international application contains multiple (groups of) inventions as follows:

1. Claim nos.: 1-10 (partly); 12; 13 (partly); 14; 15 (partly); 16; 17 (partly); 18; 19, 21-47, 51-67, 71 (all partly)

Nucleic acids according to seq. ID nos. 1-4 which code for the human ion channel OTRPC4 and use thereof.

2. Claim nos.: 1-10 (partly); 11; 13, 15, 17 (each partly); 18; 19 (partly); 20; 21-47, 51-67, 71 (each partly)

Nucleic acids according to seq. ID nos. 5-8 which code for the murine ion channel OTRPC4 and use thereof.

Attention is drawn to the fact that seq. ID nos. 3 and 4 are sub-sequences of seq. ID nos. 1 and 2 and that seq. ID nos. 7 and 8 are sub-sequences of seq. ID nos. 5 and 6.

This fact could result in further objections as to the uniformity of the invention.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP01/02837

Continued from box 1.2

Claim nos.: 34, 48-50, 68-70

1. Claim 34 relates to a polypeptide which is supposed to be a variant of the non-selective cation channel because of the degenerative nucleic acid code.

The claim is unclear in the sense that in general wording, the nucleic acid code is degenerated. The term "degenerative" is therefore unclear. The term "degenerated nucleic acid code" also refers to the possibility of producing identical amino acid sequences despite the different DNA sequence. Therefore, the degenerated code in now way leads to variants of a polypeptide.

These problems make it impossible to even identify the subject matter of claim 34, making a search impossible.

2. Claims 48-50 and 68-70 relate to activators, blockers and modulators of the ion channel described as OTRPC4 and to their use.

Substances of this type are not described in the present invention. In the absence of technical features of the claimed substances, a search is impossible. The cited claims are purely speculative and fundamentally, only represent the result.

The applicant is advised that patent claims relating to inventions for which no international search has been produced cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)).

As a general rule, the EPO in its capacity as the authority entrusted with the task of carrying out an international preliminary examination will not conduct a preliminary examination for subjects in respect of which no search has been provided. This also applies to cases where the patent claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or to cases where the applicant presents new patent claims in the course of the PCT Chapter II procedure.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/02837

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 0032766	A	08-06-2000	AU	1968400 A		19-06-2000
			WO	0032766 A1		08-06-2000
			EP	1135490 A1		26-09-2001
WO 0146258	A	28-06-2001	AU	2736101 A		03-07-2001
			WO	0146258 A2		28-06-2001
WO 0134805	A	17-05-2001	EP	1144628 A2		17-10-2001
			WO	0134805 A2		17-05-2001
WO 0153348	A	26-07-2001	WO	0153348 A2		26-07-2001

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/02837

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/11 C12N15/12 C12N15/62 C12N5/10 C07K14/47  
 C07K14/705 C07K16/18 A61K38/17 A61K48/00 A01K67/027  
 G01N33/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

SEQUENCE SEARCH, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EBI 'Online! AB021875, 3. September 1999 (1999-09-03) SUZUKI, M.: "Mus musculus mRNA for ion channel, complete cds" XP002182927 86,4 % Identität mit Seq. 1 in 2799 nt 99,4 % Identität mit Seq. 5 in 3231 nt --- -/--	1-33, 35-47, 51-67,71

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

15. November 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

16/01/2002

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Kurz, B

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online!  AAA29173, 12. September 2000 (2000-09-12)  DELANY, N. S. ET AL.: "Human vanilloid  receptor 3 coding sequence"  XP002182928  99,6% Identität mit Seq. 1 in 3170 nt  90,8% Identität mit Seq. 3 in 2616 nt  86,4 % Identität mit Seq. 5 in 2808 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-&amp; WO 00 32766 A (GLAXO GROUP LTD)  8. Juni 2000 (2000-06-08)</p> <p>siehe Sequenz 4 (= hVR3)</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>DATABASE EBI 'Online!  AF263523, 1. November 2000 (2000-11-01)  LIEDTKE, W. B. ET AL.: "Homo sapiens  vanilloid receptor-related osmotically  activated channel (VROAC) mRNA, complete  cds"  XP002182929  99,6 % Identität mit Seq. 1 in 2843 nt  86,8 % Identität mit Seq. 5 in 2775 nt</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
P,X	<p>-&amp; LIEDTKE, W. ET AL.: "Vanilloid  receptor-related osmotically activated  channel (VR-OAC), a candidate vertebrate  osmoreceptor"  CELL,  Bd. 103, Oktober 2000 (2000-10), Seiten  525-535, XP002182926  das ganze Dokument</p>	1-33, 35-47, 51-67,71
E	<p>WO 01 46258 A (INCYTE GENOMICS INC  ;AZIMZAI YALDA (US); KHAN FARRAH A (US);  REDDY) 28. Juni 2001 (2001-06-28)</p> <p>99,5 % Identität (Seq. 29) mit Seq. ID Nr.  1 in 1836 nt</p>	1-13,15, 17,19, 29-33, 35-37
E	<p>WO 01 34805 A (ABBOTT LAB)  17. Mai 2001 (2001-05-17)</p> <p>99,7 % Identität in 3173 nt von Position  29-3200 von Seq. ID Nr. 1</p>	1-13,15, 17,19, 21-33, 35-47, 51,58-64
E	<p>WO 01 53348 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO)  26. Juli 2001 (2001-07-26)  99,7 % Identität in 2412 nt von Position  240-2651 von Seq. ID Nr. 1</p>	1-71

-/--

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CATERINA ET AL: "A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 398, 1. April 1999 (1999-04-01), Seiten 436-441, XP002105951 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument ---	1-71
A	CATERINA M J ET AL: "THE CAPSAICIN RECEPTOR: A HEAT-ACTIVATED ION CHANNEL IN THE PAIN PATHWAY" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 389, 23. Oktober 1997 (1997-10-23), Seiten 816-824, XP002075020 ISSN: 0028-0836 das ganze Dokument -----	1-71

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 34, 48-50, 68-70

1. Anspruch 34 bezieht sich auf ein Polypeptid, das eine Variante des nicht-selektiven Kationenkanals aufgrund des degenerativen Nukleinsäure-Kodes sein soll.

Der Anspruch ist dahingehend unklar, als nach allgemeiner Sprachregelung der Nukleinsäurekode degeneriert ist. Die Formulierung "degenerativ" ist daher unklar. Desweiteren bezieht sich die Bezeichnung degenerierter Nukleinsäurekode darauf, dass trotz unterschiedlicher DNA-Sequenz identische Aminosäuresequenzen hergestellt werden können. Der degenerierte Kode führt also auf keinen Fall zu Varianten eines Polypeptids.

Die genannten Probleme machen es unmöglich, überhaupt den Gegenstand von Anspruch 34 zu identifizieren. Somit ist eine Recherche nicht möglich.

2. Die Ansprüche 48-50 und 68-70 beziehen sich auf Aktivatoren, Blocker und Modulatoren des als OTRPC4 bezeichneten Ionenkanals, sowie auf deren Verwendung.

Stoffe dieser Art werden in der vorliegenden Anmeldung nicht beschrieben. In Abwesenheit technischer Merkmale der beanspruchten Stoffe ist eine Recherche jedoch unmöglich. Die zitierten Ansprüche sind rein spekulativ und stellen im Grunde genommen nur das gewünschte Resultat dar.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-10 (teilweise); 12; 13 (teilweise); 14; 15 (teilweise); 16; 17 (teilweise); 18; 19, 21-47, 51-67, 71 (alle teilweise)

Nukleinsäuren gemäss Seq. ID Nr. 1-4, die für den menschlichen Ionenkanal OTRPC4 codieren und ihre Verwendung.

2. Ansprüche: 1-10 (teilweise); 11; 13, 15, 17 (jeweils teilweise); 18; 19 (teilweise); 20; 21-47, 51-67, 71 (jeweils teilweise)

Nukleinsäuren gemäss Seq. ID Nr. 5-8, die für den murinen Ionenkanal OTRPC4 codieren und ihre Verwendung.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Seq. ID. Nr. 3 und 4 Subsequenzen von Seq ID. Nr. 1 und 2 sind, und dass ebenso die Seq. ID. Nr. 7 und 8 Subsequenzen der Seq. ID. Nr. 5 und 6 sind.

Aus dieser Tatsache können weitere Einwände bezüglich Einheitlichkeit der Erfindung resultieren.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/02837

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0032766	A	08-06-2000	AU	1968400 A	19-06-2000
			WO	0032766 A1	08-06-2000
			EP	1135490 A1	26-09-2001
WO 0146258	A	28-06-2001	AU	2736101 A	03-07-2001
			WO	0146258 A2	28-06-2001
WO 0134805	A	17-05-2001	EP	1144628 A2	17-10-2001
			WO	0134805 A2	17-05-2001
WO 0153348	A	26-07-2001	WO	0153348 A2	26-07-2001



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**This Page Blank (uspto)**